

Synthese, Löslichkeit und Stabilität von Gold-Nanopartikeln in biologischen Medien

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.

vorgelegt von

Dirk Mahl

geboren in Bottrop

Institut für Anorganische Chemie
der
Universität Duisburg-Essen

2011

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von April 2008 bis März 2011 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Matthias Epple im Institut für Anorganische Chemie der Universität Duisburg-Essen durchgeführt.

Gutachter: Prof. Dr. Matthias Epple
 Prof. Dr. Torsten C. Schmidt
 Prof. Dr. Ulrich Simon

Vorsitzender: Prof. Dr. Stefan Rumann

Tag der Disputation: 06.07.2011

Im Gedenken an meinen Vater

1. Einleitung.....	12
2. Theoretische Grundlagen.....	14
2.1. Kolloidchemie	14
2.1.1. Definition und Eigenschaften kolloidaler Systeme	14
2.1.2. Stabilität kolloidaler Systeme	15
2.2. Metallische Nanopartikel	20
2.3. Silber-Nanopartikel.....	22
2.4. Gold-Nanopartikel.....	24
2.5. Medizinische und biologische Anwendungen von Gold-Nanopartikeln.....	25
3. Verwendete Methoden	27
3.1. Dynamische Lichtstreuung (DLS) und Zetapotential	27
3.2. <i>Nanoparticle Tracking Analysis</i> (NTA).....	31
3.3. Analytische Scheibenzentrifugation.....	32
3.4. Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)	35
3.5. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).....	36
3.6. Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)	37
3.7. Induktiv gekoppeltes Plasma mit massenspektrometrischer Detektion (ICP-MS)	37
3.8. Elementaranalyse.....	39
3.9. Thermogravimetrie (TG)	40
3.10. UV-Vis-Spektroskopie	40

3.11.	Infrarotspektroskopie (IR).....	42
3.12.	Kernresonanzspektroskopie (NMR)	43
3.13.	Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)	44
3.14.	Gefriertrocknung	45
4.	Experimenteller Teil	47
4.1.	Synthese der Tetrachlorogoldsäure.....	47
4.2.	Synthese des Thiol-Liganden (6,8-Dimercapto-1-oxooctyl)-polyethylenglycol-sorbitanmonolaurat (TD ₂₀ -L).....	47
4.3.	Synthese von Gold-Nanopartikeln.....	50
4.4.	Synthese von Silber-Nanopartikeln mittels Glukose	58
4.5.	Agglomerationsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln in unterschiedlichen biologischen Medien.....	58
4.6.	Bestimmung der Funktionalisierung von Gold-Nanopartikeln mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie.....	59
4.7.	Zellbiologische Untersuchungen.....	60
4.8.	Untersuchung einer bimodalen Dispersion aus Gold- und Silber-Nanopartikeln	61
5.	Ergebnisse und Diskussion	63
5.1.	Charakterisierung der Gold-Nanopartikel	63
5.1.1.	Charakterisierung der Polyvinylpyrrolidon-stabilisierten Gold-Nanopartikel dargestellt durch den Polyol-Prozess	63
5.1.2.	Charakterisierung der mit Citrat stabilisierten Gold-Nanopartikel.....	66
5.1.3.	Charakterisierung der durch Reduktion mit Citrat dargestellten und TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel.....	68

5.1.4.	Charakterisierung der durch Reduktion mit Citrat dargestellten und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel	71
5.1.5.	Charakterisierung der mit Citrat dargestellten und durch den Thiol-Liganden TD ₂₀ -L stabilisierten Gold-Nanopartikel	74
5.1.6.	Charakterisierung der durch Reduktion mit verminderter Citrat-Konzentration dargestellten und TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel	82
5.1.7.	Charakterisierung der durch Reduktion mit verminderter Citrat-Konzentration dargestellten und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel.....	85
5.1.8.	Charakterisierung der mit einem Gerbsäure/Citrat-Gemisch dargestellten und TPPTS- oder PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel	88
5.1.9.	Zusammenfassung der Charakterisierung der dargestellten Gold-Nanopartikel	97
5.2.	Untersuchung der Löslichkeit an Gold-Nanopartikeln.....	101
5.2.1.	Löslichkeitsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln mittels Dialysemembran.....	102
5.2.2.	Diffusion von Gold-Ionen durch die Dialysemembran	103
5.2.3.	Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln.....	108
5.2.4.	Löslichkeitsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln mittels Ultrazentrifugation und Agarose-Gel	111
5.2.5.	Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln.....	113
5.2.6.	Löslichkeitsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln mittels Nanofiltration	117
5.2.7.	Überprüfung der Interaktion zwischen Gold-Ionen und Filter	119
5.2.8.	Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln.....	121
5.2.9.	Löslichkeit eines Gold-Barrens	122

5.2.10. Zusammenfassung der Ergebnisse der Löslichkeitsuntersuchungen	126
5.3. Agglomerationsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln in unterschiedlichen biologischen Medien.....	130
5.3.1. Agglomerationsverhalten von TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln in RPMI mit 0,001-10 % FCS	130
5.3.2. Agglomerationsverhalten von TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln in RPMI mit 1-10 % BSA	135
5.3.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der Agglomerationsuntersuchungen .	138
5.4. Bestimmung der Funktionalisierung von Gold-Nanopartikeln mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie.....	140
5.4.1. Untersuchung Citrat-stabilsierter Gold-Nanopartikel	141
5.4.2. Untersuchung PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel	145
5.4.3. Untersuchung TPPTS-stabilsierter Gold-Nanopartikel	154
5.4.4. Untersuchung der Adsorption von BSA auf PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln	159
5.4.5. Untersuchung der Adsorption von BSA auf TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln	173
5.4.6. Zusammenfassung der Untersuchung der Funktionalisierung von Gold-Nanopartikeln	188
5.5. Zellbiologische Untersuchungen.....	196
5.5.1. Zellviabilität	196
5.5.2. Chemotaxis	198
5.5.3. Cytokin-Freisetzung	200

5.5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der zellbiologischen Untersuchungen	202
5.6. Untersuchung einer bimodalen Dispersion aus Gold- und Silber-Nanopartikeln	204
5.6.1. Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchung einer bimodalen Dispersion aus Gold- und Silber-Nanopartikeln	218
6. Zusammenfassung	220
7. Literatur	222
8. Anhang.....	234
8.1. Abkürzungsverzeichnis.....	234
8.2. Geräte	237
8.3. Gefahrstoffe und Entsorgung	240
8.4. Publikationsliste.....	242
8.5. Lebenslauf	243

1. Einleitung

Die Nanotechnologie hat im letzten Jahrzehnt weiter an Bedeutung gewonnen. Viele Nanoentwicklungen sind mittlerweile zu kommerziellen Anwendungen weiter entwickelt worden. Dazu zählen z.B. Silber-Nanopartikel, deren antibakterielle Wirkung für unterschiedliche Anwendungen, beispielsweise in Kühlschränken, in Waschmaschinen, auf Sportfunktionskleidung oder medizinischen Implantaten ausgenutzt wird.^[1-3]

Die Anwendung ist aber keineswegs auf Silber-Nanopartikel beschränkt; es finden sich auch Siliciumdioxid- und Kohlenstoff-Nanopartikel in Autoreifen wieder.^[4]

Siliciumdioxid-Nanopartikeln zudem wird ein hohes Potential in flexiblen Dünnschichtsolarzellen zugeschrieben.^[5, 6]

Ferner schützen Titandioxid- oder Zinkoxid-Nanopartikel den Menschen in Form von Sonnenschutz-Präparaten vor der intensiven UV-Strahlung, die von der Sonne ausgeht.^[7, 8] Titandioxid-Nanopartikel finden ferner eine breite Anwendung in der Fassadenbeschichtung, auf Grund der photokatalytischen und selbstreinigenden Wirkung.^[9]

Eine weitere Anwendung erfahren möglicherweise zukünftig das magnetische Eisenoxid Magnetit oder das weitestgehend inerte Edelmetall Gold in nanopartikulärer Form. Nanopartikulärer Magnetit kann als Reinigungsreagenz für Arsenverunreinigte Gewässer verwendet werden. Nach einer Arsen-Adsorption auf dem Eisenoxid kann dieses magnetisch aus dem Wasser entfernt werden.^[10] Nano-Magnetit kann auf Grund seiner magnetischen Eigenschaften auch in der Tumordiagnostik^[11, 12] und Tumorthherapie verwendet werden, da es möglich ist über ein von außen angelegtes Magnetfeld durch das Eisenoxid das Gewebe lokal zu erwärmen.^[13-15] Hierzu bedarf es einer selektiven Adressierung einer Tumorzelle, um diese nachhaltig zu zerstören.^[16]

Vergleichbare Applikationen wären für Gold-Nanopartikel denkbar. Gold-Nanopartikel haben die Eigenschaft, bei Bestrahlung mit einem energiereichen Laser die vom Laser ausgehende Energie in Wärme umzuwandeln, wodurch die Temperatur lokal soweit erhöht werden kann, dass den Gold-Nanopartikel umgebendes Zellgewebe, z.B. ein Tumor, zerstört werden kann.^[17] Darüber hinaus ist es prinzipiell möglich, die Gold-Nanopartikel als Tumormarker zu verwenden, da die Nanopartikel in Abhängigkeit von ihrer Umgebung eine unterschiedliche Plasmonenresonanz besitzen.^[17-19] Der Effekt zeigt sich in einer unterschiedlichen Absorptionswellenlänge

in gesunden und Tumorzellen.^[17] Aber auch für eine gezielte Wirkstofffreisetzung sind Gold-Nanopartikel ein geeignetes Trägermaterial.^[20] Ferner besitzen Gold-Nanopartikel ein großes Potential für eine Anwendung in Form eines Assays zur Detektion des Hepatitis C-Virus im menschlichen Blut^[21] und in der Analyse von Arsen haltigen Gewässern.^[22] Allgemein besitzen Nanopartikel eine sehr hohe spezifische Oberfläche, was insbesondere metallische Nanopartikel als Katalysatoren sehr interessant werden lässt.^[23-26]

Diese gegenwärtigen und möglicherweise zukünftigen Applikationen führen zu der Frage, wo diese Nanopartikel in der Umwelt verbleiben. Dazu zählen Gewässer, die Luft und auch Tiere und nicht zuletzt der Mensch.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Gold-Nanopartikel synthetisiert, charakterisiert und deren Wirkung auf menschliche Zellen untersucht. Eine Kernfrage, die es zu beantworten galt, ist, ob die dargestellten Gold-Nanopartikel eine toxische Wirkung zeigen und ob sie in einer Zelle eine Stressreaktion verursachen können.

Darüber hinaus wurde auch das Agglomerationsverhalten der Nanopartikel in verschiedenen Zellkulturmedien untersucht. Das ist eine sehr wichtige Fragestellung, da gegenwärtig nicht ausreichend geklärt ist, ob die Nanopartikel im menschlichen Organismus ihre stabile kolloidale Form beibehalten.

Ergänzend wurde das Auflösungsverhalten von Gold-Nanopartikeln, zunächst in Reinstwasser, in Abhängigkeit von ihrer Größe und Funktionalisierung erfasst. Die erhaltenen Ergebnisse können Hinweise ergeben, ob von Gold-Nanopartikeln eine Gefahr für den Mensch und seine Umwelt ausgeht oder nicht.

2. Theoretische Grundlagen

2.1. Kolloidchemie

2.1.1. Definition und Eigenschaften kolloidaler Systeme

Allgemein werden kolloidale Systeme nach drei Klassen unterschieden. Nach Staudinger gibt es Dispersions-, Molekül- und Assoziationskolloide. Dispersionskolloide stellen ein System, bestehend aus einem Kolloid, das in einem Dispersionsmittel verteilt vorliegt, dar. Es handelt sich bei Dispersionskolloide um thermodynamisch instabile Systeme, da sich die Kolloide gegenüber dem Dispersionsmittel hydrophob verhalten. Molekülkolloide sind thermodynamisch stabile, hydrophile Systeme, deren Partikelgröße durch die Verknüpfung von 10^3 bis 10^9 kovalent verbundenen Atomen bestimmt wird. Zu dieser Klasse gehören z.B. die Polysaccharide. Zur dritten Klasse gehören die Assoziationskolloide. Sie sind thermodynamisch stabil und gehören zu den hydrophilen Systemen. Diese werden durch spontan und reversibel verlaufende Zusammenlagerungen einzelner Tensidmoleküle charakterisiert. Diese Assoziante bilden sowohl in polaren als auch in apolaren Dispersionsmitteln Mizellen, deren Größe im Bereich der Kolloide liegt. Der Aggregatzustand sowohl des Kolloids als auch des Dispersionsmittels kann allgemein fest, flüssig oder gasförmig sein. Die Größe der Kolloide liegt zwischen 1 nm und 500 nm. Die folgende Tabelle beschreibt einige Beispiele für kolloid-disperse Systeme.^[27]

Tabelle 1: Übersicht über eine Auswahl kolloid-disperser Systeme^[27]

System	Bezeichnung	Dispergierte Phase	Dispersionsmittel
Milch	Emulsion	Flüssigkeit	Flüssigkeit
Nebel	Aerosol (flüssig)	Flüssigkeit	Gas
Rauch	Aerosol (fest)	Feststoff	Gas
Goldkolloide	Dispersion	Feststoff	Flüssigkeit

Die geringe Partikelgröße führt zu den für Kolloide spezifischen Eigenschaften. Kleine Partikel besitzen eine größere spezifische Oberfläche als größere Partikel und machen sie interessant, z.B. für eine Anwendung in der Katalyse oder in der Medizin. Bei einer geeigneten Funktionalisierung, etwa durch eine Adsorption von geladenen Molekülen auf der Partikeloberfläche, sind Wechselwirkungen mit anderen Partikeln oder Molekülen möglich.^[27]

Kolloide können prinzipiell auf zwei Wegen erzeugt werden. Die erste Möglichkeit besteht in einer Verringerung der Größe einer makroskopisch festen Phase bis zum Erreichen der Kolloiddimension (*Top-down-Methode*, engl. von oben nach unten). Die zweite Art, Dispersionskolloide zu erzeugen, geht von einzelnen Atomen oder Molekülen aus. Es ist beispielsweise möglich, durch die Reaktion eines Eduktsalzes mit einem geeigneten Reduktionsmittel sogenannte Kristallisationskeime zu bilden. Diese Kristallisationskeime wachsen im weiteren Verlauf der Reaktion bis zum Erreichen der kolloidalen Dimension. Das weitere Wachstum kann durch einen Inhibitor gestoppt werden, der beispielsweise auf der Oberfläche der gebildeten Nanopartikel adsorbiert, und somit ein weiteres Wachstum verhindert (*Bottom-up-Methode*, engl. von unten nach oben). Die Stabilisierung der Kolloide in einem Dispersionsmittel erfolgt über die Anlagerung von einzelnen Molekülen, Tensiden oder Polymeren. Dabei bilden die Partikel eine elektrostatische Doppelschicht aus, die aus der starren Sternschicht und einer diffusen Schicht besteht. Es resultiert eine Ladungswolke, die symmetrisch um das kugelförmige Kolloid aufgebaut wird. Die Stabilisierung der Kolloide ist auf die repulsiven Wechselwirkungen der dispergierten Partikel zurückzuführen, wenn diese bei einer Annäherung einen bestimmten Abstand zueinander unterschreiten. Diese repulsiven Wechselwirkungen werden durch Überschussladungen erzeugt, die positiver oder negativer Natur sein können.^[27]

2.1.2. Stabilität kolloidaler Systeme

Bei der Alterung einer kolloid-dispersen Phase beginnt in dem System eine Trennung der festen von der flüssigen Phase. Die Geschwindigkeit dieses Prozesses ist u.a. von den Faktoren Löslichkeit der festen Phase, Temperatur, Viskosität, Diffusionskoeffizient und Stoßhäufigkeit abhängig. Dabei haben kleine Partikel eine höhere Löslichkeit als größere. Eine Temperaturerhöhung erhöht die Auflösungsgeschwindigkeit, den Diffusionskoeffizienten und die Bewegung der Partikel. Das

Resultat ist eine Zunahme der Partikelgröße. Eine Erhöhung der Stoßhäufigkeit findet z.B. bei der Behandlung einer kolloidalen Dispersion mittels Ultraschall statt. Allgemein liegt die Triebkraft für die Alterung des Systems darin, den thermodynamisch stabilsten Zustand einzunehmen. Der Alterungsprozess kann ebenfalls durch den Zusatz freier Ladungsträger, z.B. durch Elektrolytzugabe, beschleunigt werden. Die freien Ladungsträger verändern die elektrostatische Stabilisierung durch die repulsiven Wechselwirkungen, und das System agglomeriert. Die in größeren Aggregaten vorliegenden Partikel behalten dabei zunächst ihre ursprüngliche Gestalt. In diesem Stadium sind die Partikel noch redispergierbar. Erst wenn es zu Rekristallisationsprozessen kommt, ist der Zustand irreversibel.^[27]

Mit Hilfe der DLVO-Theorie (Theorie von Derjagin, Landau, Verwey und Overbeek) ist es möglich, die Stabilität von kolloid-dispersen Systemen zu beschreiben. Die Stabilität kommt durch Wechselwirkungen zwischen attraktiven und repulsiven Kräften zustande. Hierbei spielen die van der Waals-Kräfte die Rolle der attraktiven Kräfte, die elektrostatischen Kräfte repräsentieren die repulsiven Kräfte. Die folgende Abbildung beschreibt die Abhängigkeit des Potentials vom Abstand zweier Teilchen für unterschiedliche Wechselwirkungen.^[27]

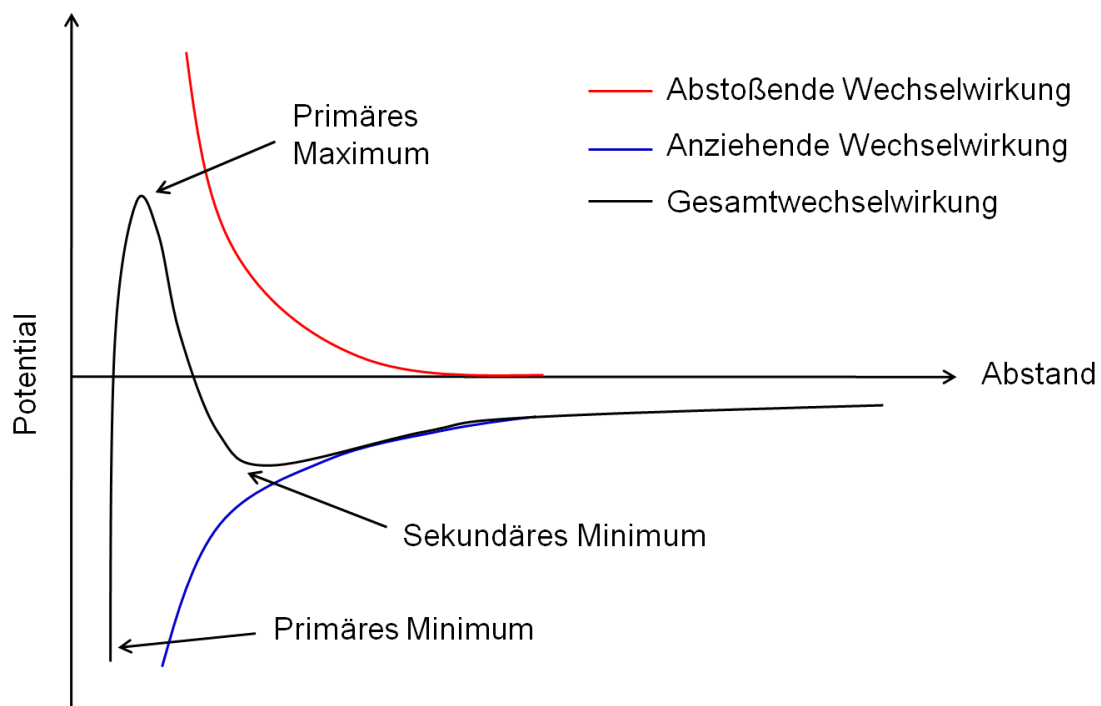


Abbildung 1: Darstellung des Potentialverlaufes eines kolloid-dispersen Systems, bezogen auf den Abstand zweier Kolloide.

Eine Dispersion ist umso stabiler, je größer das Potential am primären Maximum ist. Das primäre Maximum stellt eine Energiebarriere dar, die überwunden werden muss, um das kolloid-disperse System koagulieren zu lassen. Sowohl am primären als auch am sekundären Minimum liegen die Partikel koagulierte vor. In dem sekundären Minimum ist die Agglomeration reversibel, lediglich die Viskosität der Dispersion ist dort erhöht. Im primären Minimum hingegen ist die Agglomeration auf Grund einer vorliegenden Rekristallisation des Partikelsystems irreversibel.

Enthält eine Lösung Ionen, so können sich diese an der Oberfläche eines Partikels anlagern. Dieses kann mit oder ohne Hydrathülle geschehen. Durch die Anlagerung der Ionen an der Partikeloberfläche entsteht eine elektrische Doppelschicht, die mit Hilfe des Stern-Modells beschrieben werden kann. Das Stern-Modell geht von zwei Schichten aus, die ein Partikel umgeben. Zunächst umgibt das Partikel die starre Stern-Schicht, die sich direkt an der Oberfläche befindet. An diese schließt sich eine diffuse Schicht. Auf Grund von elektrostatischen Wechselwirkungen werden ungleiche Ladungen angezogen, gleiche hingegen abgestoßen. Der Grund für die Stabilisierung der Partikel liegt in einer Abstoßung gleich geladener Teilchen. Überwiegt die Abstoßung die Anziehung, so ist eine Dispersion als elektrostatisch stabil anzusehen.^[27]

Neben der elektrostatischen Stabilisierung von Kolloiden in einer Dispersion existiert die Möglichkeit der sterischen Stabilisierung. Bei der sterischen Stabilisierung wird das Kolloid mit einem geeigneten Liganden oder Polymer versetzt, die an der Oberfläche des Kolloids adsorbieren oder chemisorbieren. Kommt es nun zu einer Annäherung zweier Kolloide, so wirken die Liganden oder Polymere wie eine Schutzschicht, die verhindert, dass die attraktiven Wechselwirkungen zu einer Zusammenlagerung der Partikel führen. Der Grund liegt in einer verminderten Mobilität der adsorbierten Polymerketten, was eine Verringerung der Entropie nach sich zieht. Die Zusammenlagerung der Partikel wird folglich durch das Bestreben eines Systems, die höchst mögliche Entropie zu erlangen, verhindert.^[27]

Abbildung 2 zeigt die sterische Stabilisierung eines Kolloids durch Adsorption eines Polymers.

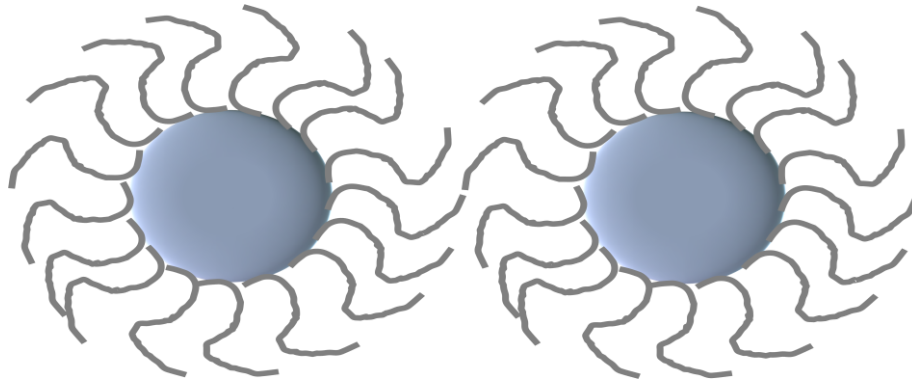


Abbildung 2: Sterische Kolloidstabilisierung durch Adsorption eines Polymers.

Beim Einsatz von Polymeren zur Stabilisierung einer Dispersion ist die Polymerkonzentration maßgeblich für die Stabilität verantwortlich. Abbildung 3 verdeutlicht unterschiedliche Situationen, die in einer Dispersion vorliegen können. Der erste Fall beschreibt die Brückenflockung, die bei einer zu geringen Polymerkonzentration eintritt. Dieser Fall begünstigt die Adsorption des Polymers an mehrere Partikel, was zu einer Destabilisierung führt. Im zweiten Fall liegt das Polymer in einer optimalen Konzentration vor, was zu einer sterischen Stabilisierung führt. Durch eine weitere Erhöhung der Polymerkonzentration erhält man die Verminderungsflockung und die Verminderungsstabilisierung. Die erhöhte Menge des Polymers verringert die Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei Kolloide berühren. Verstärkt wird dieser Effekt durch eine Erhöhung der Viskosität des Dispersionsmittels, wodurch auch die Partikel verlangsamt werden. Hinzu kommt eine Verringerung des Dichteunterschieds zwischen den Kolloiden und dem Dispersionsmittel, wodurch die Sedimentation der Partikel verringert wird.

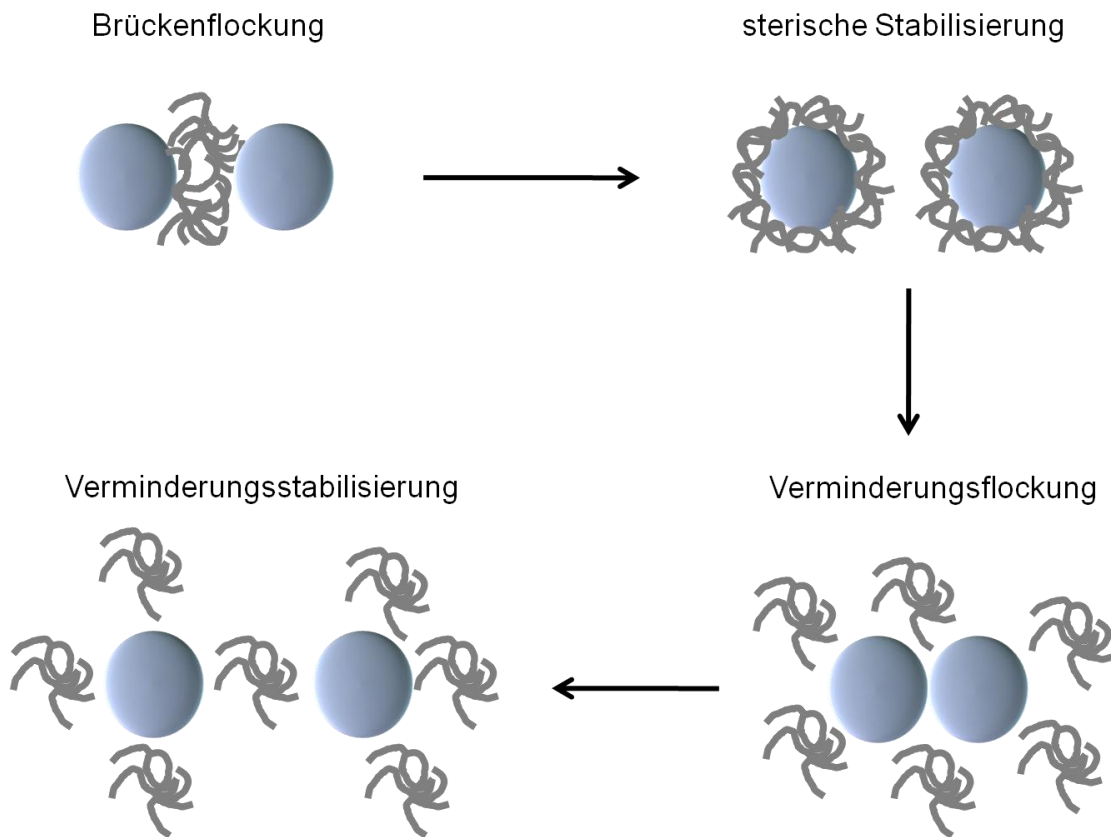


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Kolloidstabilisierung in Abhängigkeit unterschiedlicher Polymerkonzentrationen: Brückenflockung bei zu geringer Polymerkonzentration; sterische Stabilisierung bei ausreichender Polymerkonzentration; Verminderungsflockung bei höherer Polymerkonzentration; Verminderungsstabilisierung bei sehr hoher Polymerkonzentration.

In der Literatur finden sich zahlreiche Publikationen zur Stabilisierung von Nanopartikeln mit den unterschiedlichsten Polymeren. So ist es möglich, Gold-^[28] und Silber-Nanopartikel^[29] mit dem ungeladenen Polymer Polyvinylpyrrolidon (PVP) zu stabilisieren. Ferner dienen Polymethacrylat zur Stabilisierung von Cobalt-Nanopartikeln^[30] und Polylactid zur Stabilisierung von Eisenoxid-Nanopartikeln.^[31] Calciumphosphat-Nanopartikel können sowohl mit dem kationischen Polyelektrolyten Polyallylaminhydrochlorid (PAH) als auch mit den anionischen Polyelektrolyten Polyacrylsäure (PAA) und Polystyrolsulfonat (PSS) stabilisiert werden.^[32, 33]

2.2. Metallische Nanopartikel

Die Nanotechnologie hat in den letzten Jahren vermehrt an Bedeutung gewonnen. Insbesondere metallische Nanomaterialien, die in mindestens einer Raumrichtung eine Größe zwischen 1 und 100 nm besitzen,^[34] sind von erhöhtem Interesse für zahlreiche Anwendungen,^[35, 36] wie z.B. die Katalyse,^[37-39] die Elektronik^[40] oder die Datenspeicherung.^[41] Aber auch in der Medizin^[42-45] werden zukünftig weitere Anwendungen zu erwarten sein. Das hohe Interesse verdanken die Nanomaterialien ihrer Größe, da sie weder die Eigenschaften der Atome noch die Eigenschaften der Volumenphase besitzen. Neben der Form ist auch die innere Struktur sehr wichtig. Es wird allgemein zwischen hohlen und massiven Formen unterschieden.^[46] Eine Verringerung der Größe der Metall-Nanopartikel führt zu einer Erhöhung der spezifischen Oberfläche, was die Partikel für eine Anwendung in der Katalyse interessant macht.^[47, 48] Ebenso spielt die äußere Gestalt der Nanopartikel eine große Rolle. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die zahlreichen Variationsmöglichkeiten bei metallischen Nanopartikeln.

Tabelle 2: Zusammenfassung der möglichen Formen, die metallische Nanopartikel annehmen können.^[49]

Struktur	Form	Metalle
Einkristall	Würfel	Au, Ag, Pd, Pt, Cu, Rh, Fe
	Oktaeder	Au, Ag, Pd, Pt
	Tetraeder	Au, Ag, Pt
	Stäbe	Ag, Pd, Pt
	Oktagonaler Stab	Au, Pd, Fe
Einfach verzwillingt	Bipyramide	Ag, Pd
	Zylinder	Ag
Mehrfach verzwillingt	Kugeln	Au, Ag, Pd
	Dekaeder	Au, Ag, Pd
	Ikosaeder	Au, Pd
	pentagonaler Stab	Au, Ag, Pd, Cu
	pentagonaler Draht	Au, Ag, Cu
	Plättchen	Au, Ag, Pd, Cu

Bei der Synthese nanoskopischer Metallpartikel unterscheidet man drei Phasen: die Keimbildung, die Bildung makroskopischer Kristallkeime und das Kristallwachstum. In einem ersten Schritt, der Keimbildung, wird eine Verbindung des entsprechend darzustellenden Metalls zu Atomen reduziert. Der Mechanismus wurde erstmals für die Synthese von Schwefelkolloiden beschrieben.^[50] Durch die Reduktion einer geeigneten Vorstufe des zu synthetisierenden Metalls erhöht sich die Metallatomkonzentration, und es erfolgt ein Überschreiten des Übersättigungspunktes. Dort erfolgt die Bildung der Kristallisationskerne (Metallcluster). Diese wachsen sehr schnell, was zu einer Verringerung der Metallatomkonzentration führt. Beim Unterschreiten der minimalen Übersättigung werden keine neuen Keime mehr gebildet. Abbildung 4 beschreibt die Keimbildung nach LaMer.

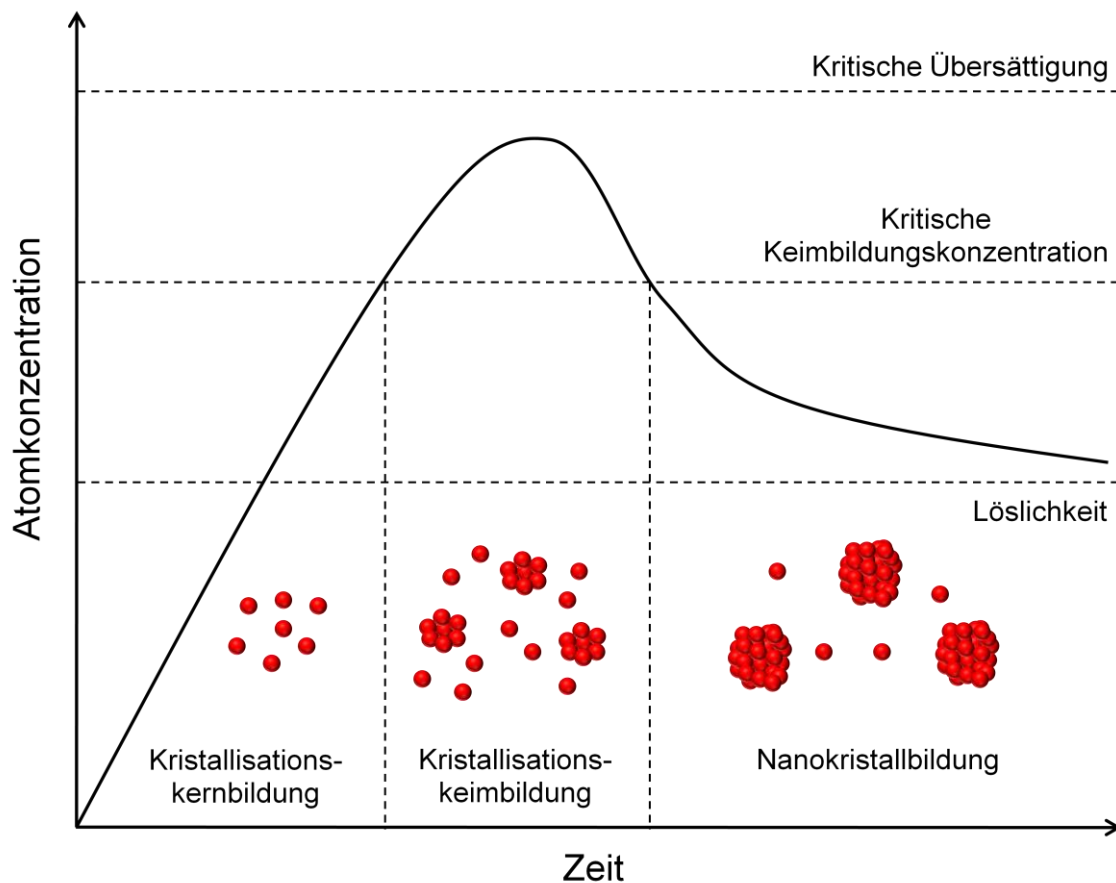


Abbildung 4: Darstellung der Keimbildung nach LaMer. Das Diagramm stellt die drei Phasen der Synthese nanoskopischer Metallpartikel dar.

In der ersten Phase entstehen noch weitere Kristallisationskerne. Das geschieht aber nur solange, bis sich ein Gleichgewicht zwischen den in der Lösung befindlichen Atomen und den Oberflächenatomen des nanoskopischen Kristalls eingestellt hat. In

der zweiten Phase bilden sich die Kristallisationskeime aus. Der Grund liegt in einem zu hohen Energieaufwand für eine Veränderung der Struktur der Kristallisationskerne (Cluster). Kristallisationskeime können verzwillingt oder als Einkristall auftreten, was zu unterschiedlichen Formen führen kann.^[51] Eine formkontrollierte Synthese kann thermodynamisch oder kinetisch erfolgen. Ist die Synthese thermodynamisch kontrolliert, so erfolgt die Bildung der thermodynamisch stabilsten Form. Der Grund ist die Oberflächenenergie. Bei der kinetischen Kontrolle entscheidet die Reduktionsgeschwindigkeit der Ausgangsverbindung des zu bildenden Metall-Nanokristalls über die Struktur. Wird die Reduktionsgeschwindigkeit hinreichend langsam, so bilden sich Kristallisationskerne und -keime durch zufällige hexagonale dichte Packungen, wobei es zum Einbau von Stapelfehlern kommt.^[52, 53] Es resultieren dann Strukturen, die thermodynamisch nicht zugänglich wären, z.B. Metallplättchen. Hierzu ist es notwendig, dass sowohl die Keimbildung als auch das Keimwachstum nicht den thermodynamisch kontrollierten Weg verfolgen. Durch den Einsatz eines schwachen Reduktionsmittels^[54, 55] oder die Ausnutzung der Ostwald-Reifung^[56] ist es möglich, Einfluss auf die kinetische Kontrolle auszuüben. Der Grund liegt darin, dass durch die Verringerung der Atomkonzentration in der Lösung das autokatalytische Wachstum zu Polyederstrukturen verhindert wird. In der dritten Phase führt das Keimwachstum zu nanoskopischen Metallpartikeln. Das erfolgt durch eine Anlagerung weiterer Metallatome an die bereits bestehende Metalloberfläche. Das Wachstum wird durch zwei Prozesse gesteuert. Zum einen wird Wachstum durch die abnehmende Volumenenergie gefördert, zum anderen durch die Zunahme der Oberflächenenergie die Auflösung begünstigt. Die Form von nanoskopischen Metallpartikeln kann durch den Einsatz von Polymeren oder Liganden gesteuert werden. Diese besetzen durch Chemisorption einzelne Flächen auf der Oberfläche der Nanokristalle, wodurch sich die Oberflächenenergien verändern. Die Veränderung der Oberflächenenergien hat einen Einfluss auf die Wachstumsgeschwindigkeit, wodurch definierte Formen resultieren.

2.3. Silber-Nanopartikel

Silber gehört gegenwärtig zu den Metallen mit den häufigsten Anwendungen. Es dient u.a. als biozides Material, z.B. in Deodorants, Sportkleidung, Kühlschränken oder Kathetern in Krankenhäusern. Das Silber wird dabei sowohl als Verbindung mit Silber in der Oxidationsstufe +1 als auch nanopartikulär verwendet. Es ist technisch

möglich, Silber-Nanopartikel in verschiedenen Größen und in unterschiedlichen Formen darzustellen. Zudem können die Eigenschaften der Silber-Nanopartikel durch eine Modifikation der Oberflächenladung verändert werden. Als Ausgangsverbindung dient häufig das Silbernitrat auf Grund der guten Löslichkeit in wässrigen Systemen. Häufig gewählte Reduktionsmittel sind Alkohole,^[29, 57-59] Zucker,^[60, 61] Citrat,^[62-64] Natriumborhydrid,^[65, 66] und Hydrazin,^[67] die Silberionen zu elementarem Silber umsetzen. Die gebildeten Cluster und Silber-Nanopartikel können durch geeignete Stabilisatoren wie Liganden, Tenside oder Polymere in ihrer Größe und Form kontrolliert werden. Der Einsatz der Stabilisatoren verhindert ebenso eine Agglomeration der gebildeten Nanopartikel.^[68] Darüber hinaus ist es möglich Silber-Nanopartikel in der Gasphase zu generieren. In diesem Fall werden unfunktionalisierte Silber-Nanopartikel erhalten, die den Nachteil haben, in Dispersionen nicht stabil zu sein.^[69] Es sind zahlreiche Stabilisatoren publiziert worden. Sehr prominent ist das Trinatriumcitrat, welches seit den 1950er Jahren bei der Darstellung von Gold-Nanopartikeln bekannt ist. Das Trinatriumcitrat fungiert bei der Synthese sowohl als Reduktionsmittel als auch als elektrostatischer Stabilisator.^[70, 71] Häufig wird eine Kombination aus dem Reduktionsmittel Ethylenglykol und dem stabilisierenden Polymer Polyvinylpyrrolidon (PVP) verwendet.^[72-74] Silber-Nanopartikel werden in verschiedenen Formen dargestellt, z.B. Kugeln,^[75] Würfel^[76-78] oder Stäbchen.^[79-82] Silber-Nanostäbchen können sowohl durch die Verwendung des stabilisierenden Tensids Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) als auch aus PVP-stabilisierten Silber-Nanokugeln dargestellt werden.^[80] Der Grund für den letzteren Fall ist eine einsetzende Ostwald-Reifung.^[83] Silber- und Gold-Nanopartikel zeigen Plasmonenresonanz,^[18] die in der oberflächenverstärkten Raman-Streuung (engl. *surface enhanced raman scattering*, SERS) ausgenutzt wird. Die Form der metallischen Nanopartikel bestimmt dabei den Spektralbereich.^[84-87] Ebenso ist es möglich, aus Silber-Nanowürfeln hohle Gold-Nanopartikel darzustellen, indem die Silber-Nanowürfel mit einem Goldsalz umgesetzt werden. Die Gold-Ionen werden bei gleichzeitiger Oxidation der Silber-Nanowürfel reduziert, und es resultieren hohle Gold-Nanopartikel.^[88]

2.4. Gold-Nanopartikel

Gold gilt als das edelste Metall und ist auf Grund der inerten Eigenschaften auch in nanopartikulärer Form von wissenschaftlichem Interesse. Insbesondere in der Katalyse^[89, 90] und in der Medizin^[91, 92] haben Gold-Nanopartikel ein hohes Potential. In der Literatur existieren zahlreiche Methoden, um die Größe und Form, ähnlich wie bei Silber- oder Palladium-Nanopartikeln, zu kontrollieren. Gold-Nanopartikel lassen sich in Kugel-,^[93-96] Würfel-,^[28, 97] Stäbchen-,^[98-101] Tetraeder-,^[28, 102] Ikosaeder-^[28] oder Plättchen-Form^[103, 104] darstellen. Michael Faraday beschrieb schon 1853 die Synthese von Gold-Nanopartikeln mittels elementarem Phosphor.^[105] Als Reduktionsmittel dienen gegenwärtig vor allem Alkohole,^[28, 97] Glukose,^[106] Trinatriumcitrat,^[19, 93, 107, 108] Gerbsäure^[26] und Natriumborhydrid.^[109, 110] Beim Einsatz starker Reduktionsmittel führt die Synthese zu thermodynamisch bevorzugten polyedrischen Systemen.^[111] Beim Vergleich von Silber- und Gold-Nanopartikeln fällt auf, dass bei Gold-Nanopartikeln einkristalline und mehrfach verzwilligte Strukturen mit (111)-Flächen vorliegen. In Silber-Nanopartikeln hingegen liegen üblicherweise (100)-Flächen in den Nano-Kristallen vor. Der Grund liegt in einer unterschiedlichen Oberflächenreaktivität bei den Gold-Nanokristallen.^[49] Das führt bei Gold-Nanokristallen zu Oktaedern,^[112] Tetraedern^[102] oder Ikosaedern.^[28] Die Bildung von Gold-Nanokristallen kann durch die Verwendung eines schwächeren Reduktionsmittels, z.B. Glucose^[106] oder Phenylendiamin, kinetisch kontrolliert werden. Das führt zu hexagonalen oder dreieckigen Gold-Nanoplättchen.^[113] Gold-Nanoplättchen werden bevorzugt gebildet, wenn die in der ersten Phase der Kristallbildung generierten Goldatomkonzentration gering genug ist, so dass sie für die Bildung der Kristallkeime nicht ausreicht. Dann kommt es zur Ausbildung von Gold-Clustern, die sich zu Nano-Kristallen zusammenlagern.^[114] Durch diese Zusammenlagerung entstehen Zwillingsdefekte oder Stapelfehler, was ebenfalls die Plättchenbildung unterstützt. Interessant ist auch die Verwendung von Gold-Impfkristallen. Werden diese mit dem Reduktionsmittel Ascorbinsäure, dem Stabilisator Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) und Silber-Ionen versetzt, so führt dies zur Ausbildung einkristalliner Nanostäbe.^[115, 116] Die Impfmethode erlaubt es darüber hinaus, Polyeder darzustellen, z.B. Würfel oder Oktaeder.^[117] Das Animpfen führt ebenso zu einem Überwachsen, was zu knochen-^[116] oder hantelförmigen^[118] Gold-Nanokristallen führt. Zur Stabilisierung bestimmter Größen und Formen werden zahlreiche Liganden, Tenside und Polymere in der Literatur beschrieben. Zu den verwendeten Liganden gehören oft Thiole^[109, 119, 120]

oder Phosphane.^[96, 121, 122] Aus der Gruppe der Tenside wird vielfach Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB)^[98, 99] verwendet. In der Polymerklasse kommen sowohl Block-Copolymere^[123] als auch einfache Polymere wie Polyethylenimin (PEI)^[95] oder Polyvinylpyrrolidon (PVP)^[97] zum Einsatz. Neben den etablierten nasschemischen Methoden ist es auch möglich, Gold-Nanopartikel mittels Femtosekunden-Laserablation zu erzeugen.^[124]

2.5. Medizinische und biologische Anwendungen von Gold-Nanopartikeln

Gold-Nanopartikel besitzen im sichtbaren Bereich des Lichtes eine starke Oberflächenplasmonenabsorption, wodurch sie ein großes Potential für photothermische Anwendungen haben. Gold-Nanopartikel können beispielsweise in Zellen eingebracht und dort mit einem entsprechenden Laser bestrahlt werden. Das absorbierte Licht kann wiederum in Wärmeenergie umgewandelt wird, was eine lokale Erwärmung der Zellumgebung zur Folge hat.^[125] Denkbar ist ein Einsatz der Gold-Nanopartikel als Krebstherapeutikum oder Krebszellenmarker. Die Unterscheidung zwischen einer gesunden und einer Tumorzelle gelingt auf Grund der unterschiedlichen Lage des Absorptionsmaximums der Gold-Nanopartikel in beiden Zelltypen.^[17] Die Arbeiten von *Chan et al.* zeigten die Zellgängigkeit von Gold-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Form und von der Größe. Es konnte an einem HeLa-Zellmodell gezeigt werden, dass die Partikelgröße zwischen 14 nm und 74 nm keinen Einfluss auf die Aufnahme durch die Zellen ausübt. Es konnte ebenso gezeigt werden, dass Citrat-stabilisierte Gold-Nanopartikel in den Zellen nahezu ausschließlich in Endosomen lokalisiert sind.^[126] Die negative Oberflächenladung der Nanopartikel ermöglicht eine Anlagerung von Proteinen, wie z.B. des Transferrins, wodurch die Aufnahme in Zellen erleichtert wird.^[127] *Chan et al.* konnten zeigen, dass diese Nanopartikel über eine Clathrin-vermittelte Endocytose in Zellen eindringen.^[128] Amin-funktionalisierte Gold-Nanopartikel besitzen auf Grund ihrer positiven Oberflächenladung ein erhöhtes Potential für die Gentransfektion, da sie elektrostatisch mit den negativ geladenen Nucleinsäuren wechselwirken können.^[129-131] Die modifizierbare Oberflächenstruktur der Gold-Nanopartikel ermöglicht ebenso den Einsatz als Wirkstofftransporter.^[132] *Feldheim et al.* zeigten, dass mit einem HIV-Antagonisten funktionalisierte Gold-Nanopartikel die Virenbildung *in vitro* stark verringern konnten.^[133] DNA-beladene Gold-Nanopartikel sind durch lichtinduzierte

Spaltung in der Lage, die DNA in der Zelle freizusetzen.^[129] Ferner werden Gold-Nanopartikel gezielt mit Oligonucleotiden versehen, wodurch eine höhere Spezifität für die Zielstruktur resultiert.^[134, 135] Die Arbeitsgruppe um Tan hat einen kalorimetrischen Nachweis für Krebszellen entwickelt. Die Grundlage bildeten DNA-funktionalisierte Gold-Nanopartikel. Die Nanopartikel wurden mit spezifischen Aptameren beladen, die mit der Krebszelle sehr stark interagieren. Die Wechselwirkung mit der Zielstruktur verursacht eine direkte Veränderung des Extinktionsspektrums. Der Grund liegt in der Oberflächenplasmonenresonanz.^[136] Darüber hinaus werden Citrat-stabilisierte Gold-Nanopartikel in biondiagnostischen Assays, z.B. zur Detektion des Hepatitis C-Virus, eingesetzt.^[137] Möglich erscheint auch eine Anwendung in Form eines Assays zur schnellen und günstigen Analyse von Arsen haltigen Gewässern, z.B. in Entwicklungsländern wie Bangladesch.^[22] Neben den Anwendungen untersuchten bislang zahlreiche Arbeitsgruppen die Toxizität von Gold-Nanopartikeln. *Simon et al.* zeigten für 0,8 nm bis 15 nm große Gold-Nanopartikel, dass 1,4 nm große Nanopartikel toxisch waren. Die 15 nm großen Nanopartikel hingegen zeigten selbst bei einer vielfach erhöhten Konzentration keine Toxizität.^[138]

3. Verwendete Methoden

3.1. Dynamische Lichtstreuung (DLS) und Zetapotential

Die dynamische Lichtstreuung (engl. *dynamic light scattering*, DLS) ist ein Verfahren, mit dem die Größe von kolloid-dispersen Systemen bestimmt werden kann. Zudem ist es möglich, über die Dispersität einer Probe eine Aussage zu treffen. Die dynamische Lichtstreuung basiert auf dem physikalischen Dopplereffekt. Dieser basiert auf der Tatsache, dass sich die Frequenz eines Senders zu höheren oder tieferen Frequenzen verschiebt, wenn sich der Sender auf einen Empfänger zubewegt oder sich von ihm entfernt. Dieser Effekt kann auf die dynamische Lichtstreuung übertragen werden. Die in einer Probe dispergierten Partikel bewegen sich in dem Dispersionsmittel zufällig nach der Brown'schen Molekularbewegung, wobei es zur Streuung des eingestrahlten Lichts an den Partikeln kommt. Wird eine Probe mit darin dispergierten Partikeln innerhalb weniger Mikrosekunden ein weiteres Mal bestrahlt, so führt dies durch die Bewegung der Partikel zu einer konstruktiven oder destruktiven Interferenz des gestreuten Lichts. Das Ergebnis ist eine zeitabhängige Veränderung der Intensität der Streustrahlung. Die Intensität des Streulichts hängt wie folgt mit der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts zusammen:

$$I_S \propto \frac{1}{\lambda^4} \quad (1)$$

I_S : Intensität der Streustrahlung

λ : Wellenlänge des eingestrahlten Lichts

Die dynamische Lichtstreuung lässt sich mit Hilfe einer Korrelationsfunktion beschreiben. Für monodisperse Partikel beschreibt diese einen exponentiellen Verlauf. Bei polydispersen Partikeln wird eine Abweichung beobachtet, weshalb durch eine Reihenentwicklung eine Annäherung an den gefundenen Funktionsverlauf erfolgt. Aus dem Kumulanten-Fit lässt sich wiederum der Polydispersitätsindex (PDI) bestimmen, der eine Aussage über die Breite der Größenverteilung der dispergierten Partikel trifft. Beim Vorliegen einer streng monodispersen Größenverteilung der dispergierten Partikel besitzt der PDI den Wert 0, bei einem PDI zwischen 0 und 0,3

ist die Größenverteilung noch als monodispers anzusehen, ab 0,5 ist sie polydispers.^[27]

Liegen in der Dispersion kugelförmige Partikel vor, so lässt sich für diese der hydrodynamische Radius bestimmen. Es gilt hierbei die Stokes-Einstein-Beziehung.

$$D_t = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (2)$$

D_t = Translationsdiffusionskoeffizient

k_B = Boltzmann-Konstante

T = Temperatur

η = Viskosität des Dispersionsmittels

R_h = hydrodynamischer Radius

Eine weitere Messgröße der dynamischen Lichtstreuung stellt das Zetapotential dar. Mit diesem ist es möglich, eine Aussage über die elektrostatische Stabilität von kolloid-dispersen Systemen zu treffen. Durch die Ladung an der Oberfläche der Partikel, etwa durch eine stabilisierende Beschichtung mit einem geladenen Liganden (z.B. TPPTS an der Goldkolloid Oberfläche), bewegen sich diese in einem angelegten elektrischen Feld entsprechend ihrer Ladung zu der Elektrode mit der umgekehrten Ladung. Die sogenannte elektrophoretische Mobilität der Partikel hängt von der Wanderungsgeschwindigkeit der Partikel und von der Stärke des angelegten elektrischen Feldes ab. Es gilt der folgende Zusammenhang:

$$U_E = \frac{v}{E} \quad (3)$$

U_E = Elektrophoretische Mobilität

v = Wanderungsgeschwindigkeit der Partikel

E = elektrische Feldstärke

Mit Hilfe der Henry-Gleichung kann das Zetapotential aus der elektrophoretischen Mobilität bestimmt werden.

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(ka)}{3\eta} \quad (4)$$

U_E = Elektrophoretische Mobilität

ε = Dielektrizitätskonstante

ζ = Zetapotential

$f(ka)$ = Henry-Funktion (abhängig von der Debyelänge k und dem Partikelradius a)

η = Viskosität des Dispersionsmittels

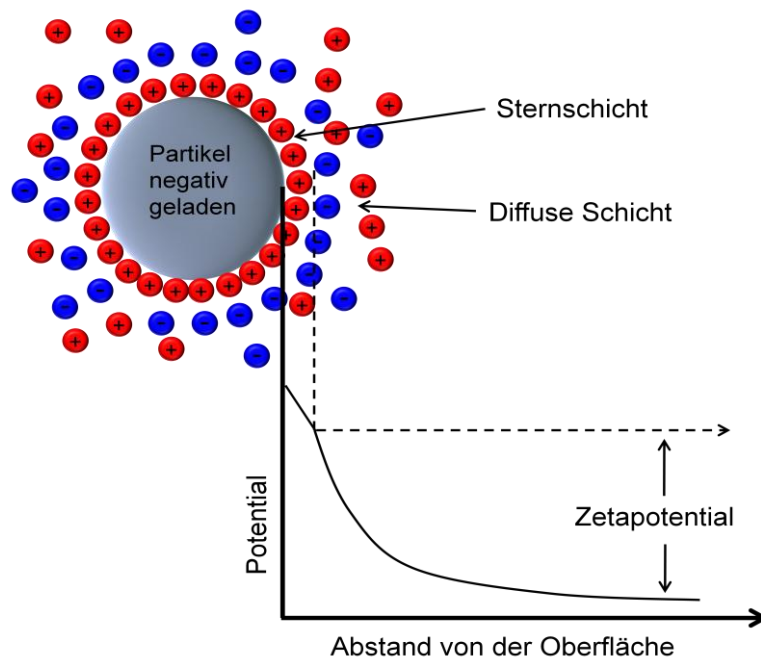


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Potentialverlaufs in Abhängigkeit vom Abstand von der Partikeloberfläche.

Abbildung 5 beschreibt schematisch den Potentialverlauf in Abhängigkeit vom Abstand von der Partikeloberfläche. Der Abbildung basiert auf dem Sternmodell. Es ist ein Partikel dargestellt, welches eine negative Ladung an der Oberfläche trägt. Dort lagern sich positiv geladene Ionen an. Dieser Bereich wird auch Sternschicht genannt. In der Sternschicht existiert ein linearer Zusammenhang zwischen dem Potential und dem Abstand von der Partikeloberfläche. Die Konzentration entgegengesetzt geladener Ionen sinkt mit zunehmendem Abstand von der Partikeloberfläche, bis die Verteilung des Dispersionsmediums erreicht wird. Dieser Bereich wird auch diffuse Schicht genannt, in der sich das Potential exponentiell verändert, da in der diffusen Schicht sowohl positive als auch negative Ladungsträger existieren. Bewegen sich die Partikel durch das Dispersionsmittel, so bewegen sich sowohl die Sternschicht als auch partiell die diffuse Schicht mit den Partikeln. Der Radius der sich mit den Partikeln bewegendes Hülle wird auch als Scherradius bezeichnet. Die auftretende Potentialdifferenz zwischen dem Scherradius und der Dispersion wird als Zetapotential definiert. Ein Zetapotential größer als ± 30 mV bedeutet, dass eine Dispersion elektrostatisch ausreichend stabilisiert ist. Der Grund für die Stabilisierung sind die zwischen gleich geladenen Teilchen vorliegenden repulsiven Wechselwirkungen. Mit zunehmender Annäherung

der Teilchen werden die repulsiven Wechselwirkungen größer, wodurch eine weitere Annäherung verhindert wird.^[27, 139, 140]

3.2. **Nanoparticle Tracking Analysis (NTA)**

Die *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) ist eine Methode zur Größenbestimmung von dispergierten Nanopartikeln. Anders als bei der dynamischen Lichtstreuung erfolgt die Größenbestimmung über eine direkte Visualisierung der Nanopartikel. Hierfür wird ein Laser verwendet, der durch die sich in einer Messzelle befindlichen Probe hindurch strahlt. Die Bestimmung des hydrodynamischen Radius erfolgt bei der *Nanoparticle Tracking Analysis* durch die Messung der Diffusionsstrecken einzelner Nanopartikel. Hierfür werden die Positionen von Helligkeitszentren in Abhängigkeit von der Zeit bestimmt. Die Helligkeitszentren entstehen, wenn der eingestrahlte Laser auf dispergierte Nanopartikel trifft. Das Laserlicht wird an der Oberfläche der Nanopartikel gestreut und das Resultat sind die Helligkeitszentren. Die Detektion der dispergierten Nanopartikel erfolgt mit einer CCD-Kamera, die sich auf einem Mikroskop befindet. In der folgenden Abbildung ist der schematische Aufbau der *Nanoparticle Tracking Analysis* dargestellt.

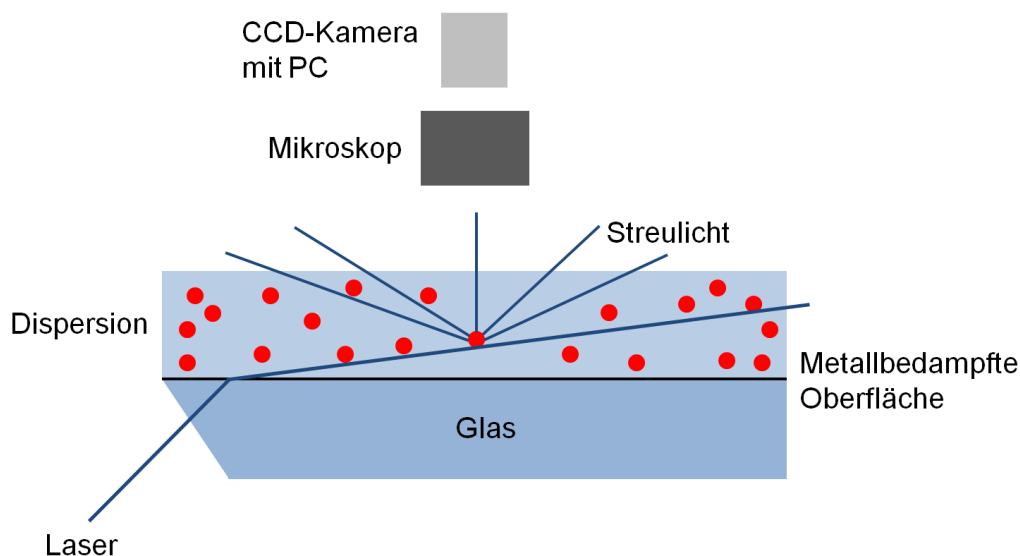


Abbildung 6: Schematische Darstellung einer Größenbestimmung mittels *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA).

Analog zur dynamischen Lichtstreuung wird bei der *Nanoparticle Tracking Analysis* auch der Diffusionskoeffizient durch die Stokes-Einstein-Gleichung ermittelt. Die Ermittlung der hydrodynamischen Radien erfolgt mittels Computer.^[141-143]

3.3. Analytische Scheibenzentrifugation

Im Gegensatz zur dynamischen Lichtstreuung und *Nanoparticle Tracking Analysis* wird bei der Analytischen Scheibenzentrifugation zur Bestimmung der Partikelgröße nicht die Brown'sche Molekularbewegung verwendet, sondern die Sedimentationsgeschwindigkeit. Hierbei wird die Tatsache ausgenutzt, dass die Sedimentation nach Stokes bei hinreichend hohen Beschleunigungskräften deutlich größer ist als die Brown'sche Molekularbewegung. Das wird erreicht, indem die Zentrifugalkraft auf die Partikel wirkt und die Sedimentation beschleunigt. Die folgenden Abbildungen verdeutlichen schematisch den Aufbau der Scheibenzentrifuge.

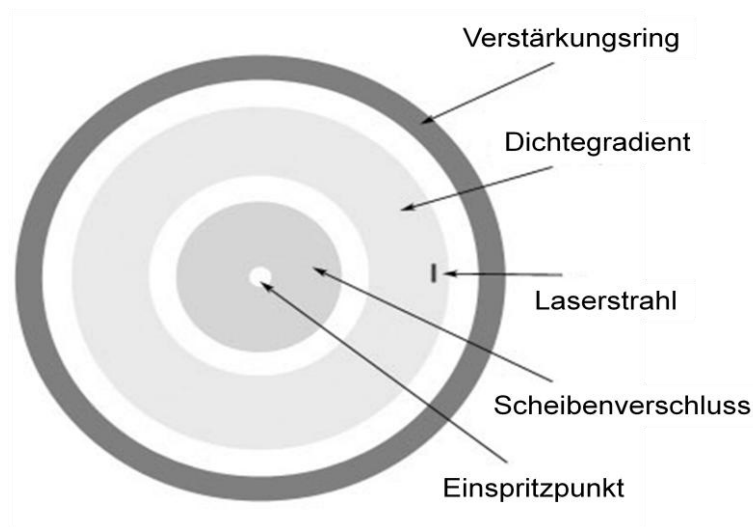


Abbildung 7: Schematischer Aufbau der Scheibenzentrifuge in der Frontansicht.^[144]

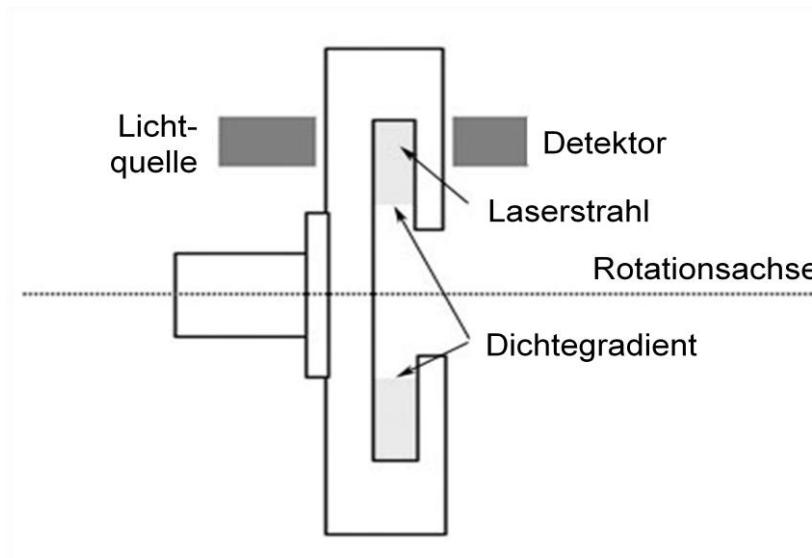


Abbildung 8: Schematischer Aufbau der Scheibenzentrifuge in der Seitenansicht.^[144]

Für die Untersuchung einer Nanopartikeldispersion wird eine verdünnte Probe in die Mitte der rotierenden Scheibe eingespritzt. Die Nanopartikel sedimentieren auf Grund der Zentrifugalkraft entsprechend ihrer Größe unterschiedlich stark. Das wird zusätzlich unterstützt, indem vor dem Einspritzen der Probe eine Saccharoselösung in die Scheibe eingebracht wird, um einen Dichtegradienten einzustellen. Der Dichtegradient verhindert eine vollständige gleichzeitige Sedimentation der Nanopartikel und ermöglicht eine Auftrennung der Probe, die über unterschiedlich große Nanopartikel verfügt. Die Detektion der Nanopartikel erfolgt mittels Lichtabsorption am äußeren Rand der Scheibe. Das Licht wird von einem Laser emittiert. Für die Bestimmung der Größe der Nanopartikel wird ein bekannter Standard verwendet. Die Partikelgröße ergibt sich aus der Sedimentationszeit für den Standard und für das zu untersuchende Partikelsystem.

Nach Stokes gilt der folgende Zusammenhang:

$$F_{Reibung} = F_{Gewicht} - F_{Auftrieb} \quad (5)$$

$F_{Reibung}$ = Reibungskraft

$F_{Gewicht}$ = Gewichtskraft

$F_{Auftrieb}$ = Auftriebskraft

In Fall der Zentrifugation wird die Gewichtskraft durch die Zentrifugalkraft ersetzt. Nach der Integration wird für den Durchmesser eines kugelförmigen Partikels der folgende Zusammenhang erhalten^[145]:

$$d = \frac{\sqrt{\frac{18\eta \ln\left(\frac{R_f}{R_0}\right)}{(\rho_p - \rho_f)\omega^2}}}{\sqrt{t}} \quad (6)$$

d = Durchmesser der Nanopartikel

η = Viskosität des Fluides

R_f = Scheibenradius am Detektor

R_0 = Scheibenradius am Probeneinlass

ρ_p = Dichte der Partikel

ρ_f = Dichte des Fluides

ω = Winkelgeschwindigkeit der Scheibe

t = Zeitpunkt, zu dem die Partikel den Detektor passieren

In der Praxis werden diese Größen zu einer Konstanten K zusammengefasst und es wird folgender Zusammenhang erhalten:

$$d = K \sqrt{\frac{1}{t}} \quad (7)$$

3.4. Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)

Bei der Rasterelektronenmikroskopie (REM, engl. *scanning electron microscopy*, SEM) wird die zu untersuchende und in einem bestimmten Winkel geneigte Probenoberfläche mit einem fein gebündelten Elektronenstrahl zeilenförmig abgerastert. Dies findet im Hochvakuum statt, um Wechselwirkungen des Elektronenstrahls mit Luftmolekülen zu minimieren. Der Elektronenstrahl wird mit Hilfe einer Glühkathode erzeugt, der anschließend eine Beschleunigung in einem elektrischen Feld erfährt. Üblicherweise beträgt die Spannung dabei 5 bis 30 kV. Die Fokussierung des Elektronenstrahls erfolgt mit Hilfe von Magnetspulen. Bei der Rasterelektronenmikroskopie wird prinzipiell zwischen Primär- und Sekundärelektronen unterschieden. Beim Auftreffen der Elektronen auf eine Probenoberfläche werden diese zum Teil zurückgestreut, weshalb diese auch als Primärelektronen bezeichnet werden. Unter Sekundärelektronen versteht man Elektronen niedriger Energie, die infolge des Einwirkens des Elektronenstrahls von der Probenoberfläche emittiert werden. Die Bildentstehung beruht auf der Tatsache, dass die Ausbeute an Sekundärelektronen von Punkt zu Punkt an der Probenoberfläche verschieden ist, so dass ein Hell-Dunkel-Bild entsteht. Mit Hilfe dieser Methode ist es allerdings nur möglich, Strukturen an der Oberfläche der Probe sichtbar zu machen. Für die Aufnahme werden die Proben auf einen Silizium-Wafer aufgetragen, wobei der Aufladungsprozess von nichtleitenden Proben ein Problem darstellt. Deshalb werden diese Proben mit einem Metall bedampft. Hierfür werden häufig Gold/Palladium oder Chrom verwendet.^[27, 146]

Eine Erweiterung der Rasterelektronenmikroskopie stellt die energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX, engl. *energy dispersive X-ray spectroscopy*) dar. Sie

ermöglicht die Bestimmung der elementaren Zusammensetzung einer Probe. Die Grundlage hierfür bildet die Tatsache, dass Stoffe Röntgenstrahlung emittieren, wenn auf ihre Oberfläche Elektronen auftreffen. Sowohl einzelne Nanopartikel bis zu einer minimalen Größe von 2 nm als auch größere Bereiche können mit Hilfe dieser Analysentechnik untersucht werden.^[147, 148]

Die durch den Beschuss der Probe mit Elektronen erzeugte Röntgenstrahlung ist elementspezifisch. Bei der EDX wird ein Spektrum der Probe aufgenommen, wobei die auftretenden unterschiedlichen Peaks mit Hilfe einer Datenbank den Elementen zugeordnet werden können. Die Intensität der erhaltenen Peaks ist hierbei proportional zur enthaltenen Menge des jeweiligen Elements.^[146]

3.5. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ist es möglich, die inneren Strukturen von Festkörpern darzustellen. Somit wird ein Einblick in die Mikro- oder Nanostruktur erhalten. Bei dieser Methode wird eine Glühemissionskathode, die aus einem Wolframfaden besteht, verwendet. Bei Temperaturen von über 2700 K werden Elektronen emittiert, welche anschließend über eine eingestellte Potentialdifferenz zwischen 10 kV und mehreren hundert kV beschleunigt werden. Dadurch wird ein Strahl mit einer definierten Energie, entsprechend einer bekannten Wellenlänge, generiert. Die erzeugten Elektronen können mit Hilfe eines magnetischen Linsensystems fokussiert werden. Die Magnetfeldstärke kann über die Stromstärke variiert werden, wovon letztendlich die Brennweite der Linse abhängt. Die Untersuchungen der Probe finden im Ultrahochvakuum statt, um Wechselwirkungen der Elektronen mit Molekülen der Luft zu minimieren. Treffen die von einer Glühemissionskathode emittierten Elektronen auf eine Probe, so werden sie am Kristallgitter gebeugt. Für die Untersuchungen ist es wichtig, dass mit möglichst dünnen Proben gearbeitet wird, um eine möglichst kontrastreiche Transmission zu erreichen. Mit zunehmender Dicke der Proben nimmt der Anteil der unelastischen Streuung gegenüber der elastischen Streuung zu, die für die Erzeugung des Bildes aber notwendig ist.^[149, 150]

Die Abbildung von organischen Materialien, beispielsweise das die Gold-Nanopartikel stabilisierenden Polyvinylpyrrolidon, ist nur bedingt möglich, da es zum Teil durch die hohe Energie des Elektronenstrahls zersetzt wird. Hinzu kommt, dass

der Kontrast bei der Abbildung des Polymers fehlt, weil es aus relativ leichten Atomen besteht.^[146, 148, 151, 152]

3.6. Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)

Die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) ist eine Methode zur quantitativen Analyse von Proben und beruht auf der Tatsache, dass freie Atome in der Lage sind, Licht zu absorbieren. Dazu wird die Probe durch einen geeigneten Atomisator, eine Flamme oder ein geheiztes Graphitrohr, in freie Atome überführt. Anschließend werden diese durch Licht im UV-Vis-Bereich angeregt. Das für die Anregung benötigte UV-Vis-Licht wird von einer Hohlkathodenlampe emittiert. Die Eliminierung der eventuell auftretenden Störstrahlung übernimmt ein Monochromator. Über einen Detektor erfolgt dann die Bestimmung der Intensitätsdifferenz zwischen dem ein- und ausgetretenen Licht. Prinzipiell werden in der AAS Lichtquellen verwendet, deren Linienbreite im Bereich der Atomlinien (10^{-3} nm bis 10^{-2} nm) liegt. Die verwendete Hohlkathodenlampe besteht aus dem zu analysierenden Element und einem Edelgas. Auf Grund der sehr schmalen Atomlinien sind Kontinuumstrahler ungeeignet, da sich die Intensität des Strahls nur geringfügig verändert, was eine Auswertung stark mit Fehlern behaften würde. Bei der Flammen-AAS besteht der Atomisator aus einer Flamme. Die flüssige Probe wird in einem Zerstäuber mit dem Zerstäubungsgas vermischt. Anschließend erfolgen die Zuführung des Brenngases und die Weiterleitung des Aerosols zum Brenner, wo die Atomisierung der zu untersuchenden Substanz erfolgt. Die quantitative Untersuchung erfolgt mit Hilfe des Lambert-Beer-Gesetzes. Die Anzahl der Teilchen, die atomisiert und angeregt werden, ist der Konzentration der zu untersuchenden Substanz in der Lösung im linearen Bereich direkt proportional. Somit kann aus der Absorption (Extinktion) des von der Lichtquelle emittierten Lichts die Konzentration der zu untersuchenden Substanz in der Probe bestimmt werden. Die Nachweisgrenze für Gold liegt für die AAS bei $0,5 \text{ mg L}^{-1}$.^[153]

3.7. Induktiv gekoppeltes Plasma mit massenspektrometrischer Detektion (ICP-MS)

Das induktiv gekoppelte Plasma mit massenspektrometrischer Detektion (ICP-MS, engl. *inductively coupled plasma*, ICP, Massenspektrometrie, MS) stellt eine Kombination zweier Methoden dar und ist eine gute Methode für die Analyse im

Spurenbereich. Die ICP wird zur Ionisierung der Probe verwendet, die Massenspektrometrie dient der Auftrennung der erzeugten Fragmente.

Bei dieser quantitativen Analysenmethode wird die zuvor aufbereitete flüssige Probe in einem Meinhard-Zerstäuber mit dem Trägergas Argon, welches auch das Plasmagas darstellt, vermischt und daraus ein Aerosol gebildet. Die Tröpfchendurchmesser liegen dabei unter 10 µm. Das Aerosol wird anschließend dem Plasmabrenner zugeführt. Der Plasmabrenner besteht wiederum aus einer Hochfrequenzspule (27,12 MHz), in welchen das Plasmagas Argon gezündet wird. Dabei wird das Argon zum Teil ionisiert, wobei freie Ladungsträger generiert werden. In dem nun leitfähigen Gas wird dann ein hochfrequenter Strom induziert, der die Ionisierung des Gases verstärkt. Das führt zu Temperaturen von bis zu 10000 K. Die Probe wird dem Plasmabrenner als Aerosol zugeführt, dort zunächst getrocknet und schließlich ionisiert. Die Aufenthaltsdauer der zu untersuchenden Substanz im Plasma liegt bei etwa 1 ms. Die erzeugten Ionen können thermisch angeregt werden. Die angeregte ionisierte Probe wird anschließend über ein Interface, das für den Druckausgleich zwischen der ICP und dem Analysator sorgt, an ein Massenspektrometer weitergeleitet, in welchem die eigentliche quantitative Bestimmung erfolgt. In der Massenspektrometrie (MS) werden die ionisierten Aerosolkomponenten auf Grund ihrer Massenzahl, dem Verhältnis von Masse (m) und Ladung (z), getrennt. Über die Intensität lässt sich die Häufigkeit eines bestimmten Ions in einer Probe bestimmen. Das Massenspektrometer besteht aus einem Probeneinlasssystem, einem Ionenbeschleunigungssystem, einem Trennsystem und einem Detektor, an den sich ein Computer zur Auswertung der Messergebnisse anschließt. Während die ICP-Einheit bei Atmosphärendruck arbeitet, ist für das Quadrupolmassenspektrometer ein Hochvakuum notwendig. Die Probe wird über das Probeneinlasssystem so in das Massenspektrometer eingeführt, dass das vorhandene Vakuum (Ionenquelle: 10^{-3} bis 10^{-4} Pa, Trennsystem: 10^{-3} bis 10^{-8} Pa) weitestgehend erhalten bleibt. Das Vakuum ist notwendig, um Kollisionen von Ionen, Atomen und Molekülen möglichst zu minimieren. Anschließend erfolgt die Beschleunigung der Ionen im Ionenbeschleunigungssystem und die Trennung der Komponenten im Trennsystem, dem so genannten Massenanalysator. Dort werden die Komponenten gemäß ihres Masse/Ladungsverhältnisses m/z getrennt. Bei den am häufigsten verwendeten Massenspektrometern handelt es sich um das Quadrupolmassenspektrometer, in denen die Ionentrennung dynamisch erfolgt. Die

Ionen werden zwischen vier diagonal angeordneten Magneten geleitet. Die Magneten bestehen aus vier Metallstäben, an denen jeweils diagonal eine positive bzw. eine negative Gleichspannung angeschlossen ist. Dieser Gleichspannung wird eine Hochfrequenzspannung überlagert, die gegenüber der vorangegangenen Spannung um 180° phasenverschoben ist. Beim Hindurchtreten der Ionen durch die vier Magneten werden jeweils Ionen, die das gleiche Masse zu Ladungsverhältnis m/z besitzen, auf einer einheitlichen Bahn zum Detektor, meist ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV), geleitet. Die das Quadrupolfeld verlassenden Ionen treffen zunächst auf eine Fotokathode, in der ein Strom ausgelöst wird. Dieser Strom erfährt in einem Dynodenfeld eine Verstärkung und kann der entsprechenden Masse zugeordnet werden. Die Nachweisgrenze für Gold liegt bei 10 ppt.^[153-155]

3.8. Elementaranalyse

Die Elementaranalyse stellt eine Analysenmethode dar, mit der eine Probe hinsichtlich der Zusammensetzung untersucht werden kann. Die routinemäßig untersuchten Elemente sind dabei die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel. In einem CHN-Analysator (Kohlenstoff-Wasserstoff-Stickstoff-Analysator) wird die Probe in einem Verbrennungsrohr mit Hilfe von Sauerstoff bei hohen Temperaturen (etwa 900°C) verbrannt, wobei Kohlenstoff zu CO oder CO_2 oxidiert wird. Der Wasserstoff wird in Wasser überführt, Stickstoff als Stickoxid oder molekularer Stickstoff freigesetzt. In einem sich an das Verbrennungsrohr anschließenden Reaktionsrohr aus Kupferoxid erfolgt die quantitative Überführung des CO zu CO_2 . Die Stickoxide reagieren hierbei vollständig zu N_2 . An das Reaktionsrohr schließt sich der Wasserkonverter an, in dem das Wasser mit Hilfe von Calciumcarbid in Acetylen überführt wird. Die zu analysierenden Gase werden dann in einer Kühlfalle von den übrigen Verbrennungsprodukten abgetrennt. Die Trennung der zu untersuchenden Substanzen erfolgt mittels einer gaschromatographischen Säule, durch die ein Gasgemisch, bestehend aus Helium als Trägergas und den Reaktionsgasen der Probe, hindurch strömt. Nach der Trennung der Gase in der Gaschromatographiesäule erfolgt die Bestimmung der zu untersuchenden Substanzen mit Hilfe eines Leitfähigkeitsdetektors. Die Elemente Sauerstoff und Schwefel werden in CO_2 und SO_2 überführt und analog quantitativ untersucht.^[153]

3.9. Thermogravimetrie (TG)

Die Thermogravimetrie ist eine thermische Analysenmethode, die auf der Messung der Massenänderung einer Substanz im Verlaufe eines vorgegebenen Temperatur-Zeit-Programms beruht. Je nach Auflösung können Heizraten zwischen 1 und 20 K min⁻¹ gewählt werden. Die Messgröße stellt dabei die durch eine Reaktion oder den Zerfall der Probe hervorgerufene Massenänderung als Funktion der Temperatur und der Zeit dar. Eine Massenänderung kann immer dann beobachtet werden, wenn die Probe über flüchtige Substanzen verfügt. Das können z.B. Wasser, Kohlenstoffdioxid oder Stickoxide sein. Prinzipiell ist es möglich Oxidationen, Reduktionen oder Zersetzungen zu untersuchen, was von der gewählten Atmosphäre abhängt. Eine Untersuchung der Massenänderung der Probe kann unter Sauerstoff oder dem Inertgas Argon erfolgen. Die zu untersuchende Substanz befindet sich dabei in einem Tiegel aus Aluminiumoxid, der auf einer Thermowaage lagert. Die Massenänderung der Probe führt zu Stufen in einem Diagramm, die einer bestimmten Reaktion zugeordnet werden können. Die Substanzen, die bei der Zersetzung, Oxidation oder Reduktion entstanden sind, können z.B. durch eine Kopplung eines IR-Spektrometers an die Thermowaage ermittelt werden. Besteht die Kurve aus mehreren Stufen, so haben unterschiedliche Zersetzungsprodukte die Probe verlassen.

3.10. UV-Vis-Spektroskopie

Die Absorption von ultravioletter (UV) oder sichtbarem (engl. *visible*, Vis) Licht führt durch die Wechselwirkung zwischen elektromagnetischen Wellen und Molekülen zu Elektronenanregungen. Bei den angeregten Elektronen handelt es sich im Allgemeinen um Valenzelektronen. Die elektromagnetische Strahlung wird durch die Wellenlänge oder Frequenz beschrieben. Es gilt der folgende Zusammenhang:

$$\nu\lambda = c \quad (8)$$

ν = Frequenz

λ = Wellenlänge

c = Lichtgeschwindigkeit

Einem Lichtquant mit einer definierten Frequenz kann durch das Planck'sche Wirkungsquantum eine diskrete Energie zugeordnet werden.

$$E = h\nu \quad (9)$$

E = Energie

h = Planck'sches Wirkungsquantum

ν = Frequenz

Wird ein Molekül, welches sich im elektronischen Grundzustand befindet, mit Licht geeigneter Wellenlänge bestrahlt, so kann dieses Licht absorbiert werden und das Molekül in einen elektronisch angeregten Zustand überführen. Das angeregte System kann anschließend entweder durch eine spontane Emission oder durch eine lichtinduzierte Emission in den Grundzustand zurückkehren. Die Absorption des eingestrahlt Lichts ermöglicht nicht nur eine qualitative Aussage über die in einem Molekül vorhandenen funktionellen Gruppen (chromophore Gruppen), sondern erlaubt auch mit entsprechender Kalibrierung quantitative Aussagen zu treffen. Die Anregung von Elektronenübergängen in unterschiedlichen funktionellen Gruppen findet bei verschiedenen charakteristischen Wellenlängen statt, so dass man die vorhandenen funktionellen Gruppen leicht identifizieren kann.

Die Absorption wird durch das Gesetz von Lambert und Beer beschrieben. Es gilt für monochromatisches Licht und verdünnte Lösungen.^[156]

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon cd \quad (10)$$

A = Absorption

I_0 = Intensität des eintretenden Lichtstrahls

I = Intensität des austretenden Lichtstrahls

ϵ = Absorptionskoeffizient

c = Konzentration

d = Schichtdicke

3.11. Infrarotspektroskopie (IR)

Die Infrarotspektroskopie ist eine Methode zur qualitativen Analyse von organischen Molekülen. Hierfür wird die Tatsache ausgenutzt, dass Molekülschwingungen und Molekülrotationen durch die Absorption von Strahlung im infraroten Bereich des elektromagnetischen Spektrums angeregt werden. In einem IR-Spektrum wird in der Regel die Durchlässigkeit (Transmission) gegen die Wellenzahl dargestellt. Das hat einen Vorteil, da die Wellenzahlen über die Frequenz der Anregungsenergie einer Schwingung direkt proportional sind. Es gelten folgende Zusammenhänge:

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (11)$$

$\tilde{\nu}$ = Wellenzahl

λ = Wellenlänge

mit (8) und (9) gilt

$$\Delta E = hc\tilde{\nu} \quad (12)$$

ΔE = Anregungsenergie

h = Planck'sches Wirkungsquantum

c = Lichtgeschwindigkeit

$\tilde{\nu}$ = Wellenzahl

Als Standardmethode für die Untersuchung organischer Moleküle dient die Fourier-Transform-IR-Spektroskopie (FTIR). Dabei werden sämtliche Frequenzen des IR-Spektrums simultan erfasst. Hierbei wird die zu allen Zeitpunkten gleich intensive, polyfrequente IR-Strahlung des eingestrahlten Lichts mit Hilfe eines Interferogramms umgewandelt. Die Strahlung wird anschließend durch die Probe geleitet. Am Detektor wird die Strahlung durch Fourier-Transformation in ein Spektrum zurückübersetzt, so dass die Darstellung der Transmission gegen die Wellenzahl erhalten wird. Es ist möglich gasförmige Proben, flüssige Proben und feste Proben zu untersuchen.^[156]

3.12. Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die Kernresonanzspektroskopie (engl. *Nuclear magnetic resonance spectroscopy*, NMR) ist eine Methode zur Strukturaufklärung von Molekülen. Dabei wird die Wechselwirkung von Stoffen mit elektromagnetischer Strahlung untersucht. Die Probe befindet sich während der Untersuchung in einem sehr starken homogenen Magnetfeld. Die Wechselwirkung von Stoffen ist auf einen Eigendrehimpuls von Atomen, dem sogenannten Kernspin, zurückzuführen. Der Kernspin ist bei ungerader Protonenzahl und/oder ungerader Neutronenzahl zu beobachten. Der Kernspin erzeugt wiederum ein magnetisches Moment, welches $2I+1$ Orientierungen bezogen auf eine willkürlich gewählten Achse annehmen kann. I ist die Kernspinquantenzahl. Die Kerne ^1H und ^{13}C besitzen eine Kernspinquantenzahl von $I = 1/2$. Sie verfügen somit über zwei Orientierungen, welche mit α ($m_I = +1/2$) und β ($m_I = -1/2$) bezeichnet werden. Diese Orientierungen des Kernspins werden durch die magnetische Quantenzahl m_I beschrieben, welche in einem äußeren homogenen Magnetfeld unterschiedliche Energien aufweisen. Dieses Phänomen wird auch Zeeman-

Aufspaltung genannt. Kerne zeigen einen Übergang vom energieärmeren α - in den energiereicheren β -Zustand, wenn die Resonanzbedingungen erfüllt werden und eine Kopplung zwischen den Kernspins und der Strahlung eintritt. Das von außen angelegte homogene Magnetfeld induziert dabei einen elektronischen Bahndrehimpuls, wodurch ein kleines zusätzliches Magnetfeld an den Kernen generiert wird. Das lokal generierte Magnetfeld kann vom äußeren angelegten Magnetfeld unterschieden werden. Dies führt zu einer Abhängigkeit der Aufspaltung der Energieniveaus von der elektronischen Struktur des Moleküls in Kernnähe. Das Resultat wird chemische Verschiebung genannt. Darunter ist zu verstehen, dass die Resonanzbedingung für verschiedene Kerne bei unterschiedlichen Frequenzen erfüllt ist. Die chemische Verschiebung wird meist relativ zu der Standardsubstanz Tetramethylsilan in *parts per million* (ppm) der Resonanzfrequenz angegeben. Die chemische Verschiebung eines Kerns gibt Hinweise auf die Zugehörigkeit zu einer bestimmten funktionellen Gruppe innerhalb des Moleküls und welche Gruppen sich in der Nachbarschaft befinden.

Ein weiterer Effekt ist die Spin-Spin-Kopplung mit der Kopplungskonstanten J , die eine Aufspaltung der Resonanzlinien verursacht. Die Spin-Spin-Kopplung führt zu einer Verschiebung der Resonanzlinie eines Kerns im Vergleich zur Position ohne Spin-Spin-Kopplung.^[140, 156]

3.13. Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)

Treffen Röntgenstrahlen auf ein Kristallgitter mit den Netzebenen hkl , so werden diese an der Elektronenhülle der sich in den Netzebenen befindlichen Atome oder Ionen gebeugt. Der Grund liegt in der Wellenlänge der Röntgenstrahlung, die etwa dieselbe Größenordnung wie der Abstand der Atome zueinander besitzt. Die Form und die Größe einer Elementarzelle bestimmen die Netzebenen in einem Kristall. An jeder Netzebene kann prinzipiell eine Reflexion der auf den Kristall auftreffenden Röntgenstrahlung eintreten. Die Reflexion der Strahlen kann hierbei zu konstruktiver oder destruktiver Interferenz führen. Die konstruktive Interferenz wird für den Fall erhalten, dass der Weglängenunterschied verschiedener Strahlen einem ganzzahligen Vielfachen der Wellenlänge entspricht. Diesen Zusammenhang beschreibt die Bragg'sche Gleichung.

$$n\lambda = 2d \sin\theta \quad (13)$$

n = Ordnung der Beugungsmaxima

λ = Wellenlänge der einfallenden Röntgenstrahlung

d = Abstand der Netzebenen

θ = Streuwinkel

Praktisch wird die Röntgenintensität in einem Winkel von 2θ von der Ebene des einfallenden Strahls auf die Probe beobachtet. Das Ergebnis ist ein Diffraktogramm, in dem die Intensität der gebeugten Röntgenstrahlung in Abhängigkeit des Winkels 2θ aufgetragen ist. Die Röntgenpulverdiffraktometrie dient der Identifizierung von Substanzen. Der Grund ist die Tatsache, dass jede kristalline Substanz über ein charakteristisches Diffraktogramm verfügt. Zudem können Aussagen über die Kristallinität und die Struktur einer Substanz getroffen werden. Mit zunehmender Kristallinität einer Substanz werden die erhaltenen Reflexe schmaler. Amorphe Substanzen hingegen besitzen zwar eine Nah- aber keine Fernordnung. Somit verfügen diese Stoffe nicht über eine entsprechende Netzebenenordnung, was undefinierte Beugungsbilder zur Folge hat. Durch Datenbanken wie der ICSD (*Inorganic crystal structure database*) ist es möglich, die erhaltenen Diffraktogramme einer Substanz zuzuordnen. Um schwer zu interpretierende Ergebnisse zu vermeiden, werden die zu untersuchenden Substanzen vor der Analyse gut gemörsert. Der Grund liegt in einem möglichen Auftreten von Vorzugsorientierungen innerhalb der Probe. Hierbei kann es zu einer Beeinflussung der relativen Reflexintensitäten kommen, wodurch die Identifizierung der Substanz erschwert wird, obwohl die Lage der Reflexe davon unberührt bleibt. Die Probe wird als Pulver auf einem Objektträger aus Glas aufgetragen. Die Untersuchungen werden mittels Cu-K α -Strahlung durchgeführt.^[157, 158]

3.14. Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung ist eine Methode, um aus Dispersionen Feststoffe zu generieren. Sie wird auch Sublimationstrocknung oder Lyophilisation genannt. Bei der Gefriertrocknung wird das Prinzip der Sublimation ausgenutzt. Unter Sublimation

wird der direkte Übergang von der festen in die gasförmige Phase verstanden. Die Gefriertrocknung findet eine häufige Anwendung auf wässrige Systeme. Die Sublimation kann mit Hilfe des Phasendiagramms von Wasser erklärt werden, welches in Abbildung 9 dargestellt ist. Bei Atmosphärendruck werden die feste, die flüssige und die gasförmige Phase durchlaufen. Bei einer Temperatur unterhalb von 0 °C und Drücken, die kleiner als 6 mbar sind, wird dagegen nur der Übergang von dem festen in den gasförmigen Zustand durchlaufen. Hierzu wird die auf wenige mL reduzierte Dispersion mit flüssigem Stickstoff tiefgefroren und in den Lyophilisator eingebracht. Anschließend wird der Druck und die Temperatur soweit abgesenkt, dass das als Dispersionsmittel fungierende Wasser sublimiert.^[159]

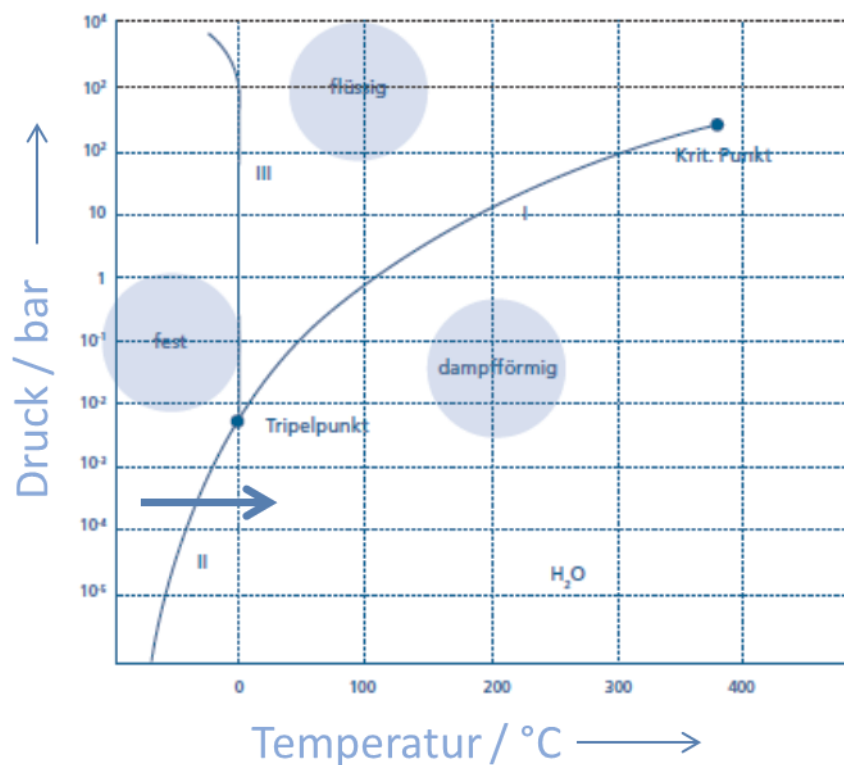


Abbildung 9: Phasendiagramm von Wasser.^[159]

4. Experimenteller Teil

4.1. Synthese der Tetrachlorogoldsäure

Als Vorstufe zur Synthese der Gold-Nanopartikel wird die Tetrachlorogoldsäure eingesetzt. Zur Darstellung der Tetrachlorogoldsäure wird 99,98 %iges Gold in Granulatform in 10 mL Königswasser in der Hitze vollständig gelöst. Nach dem nahezu vollständigen Verdampfen der flüssigen Phase wird das verbliebene Volumen mit 10 mL konzentrierter Salzsäure aufgenommen. Das Verdampfen und Aufnehmen des Restes wird drei Mal wiederholt. Die eingeeengte Lösung wird anschließend abgekühlt und mit Reinstwasser in einen 250 mL Messkolben überführt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS bestimmt.

4.2. Synthese des Thiol-Liganden (6,8-Dimercapto-1-oxooctyl)-polyethylenglycolsorbitanmonolaurat (TD₂₀-L)

Die Synthese des Thiol-Liganden TD₂₀-L basiert auf einer publizierten Synthese, die jedoch leicht modifiziert wurde, um das Produkt in vergleichbarer Ausbeute und Reinheit ohne weitere Reinigungsmaßnahmen zu erhalten. TD₂₀-L hat die Eigenschaft metallische Nanopartikel in biologischen Medien, selbst bei erhöhter Temperatur, über einen längeren Zeitraum vor einer Agglomeration zu bewahren.^[160, 161]

Synthese von 4-(N,N'-dimethylamino)pyridinium-4-toluolsulfonat (DPTS)

Zu einer Lösung von 9,51 g (50 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure (*p*-TS) in 50 mL absolutem Tetrahydrofuran (THF) werden 6,11 g (50 mmol) Dimethylaminopyridin (DMAP), gelöst in 120 mL absolutem THF, unter Argon bei 0 °C langsam hinzugegeben. Es bildet sich spontan ein weißer Feststoff. Die Lösung wird noch 1 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend filtriert und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Produkt wird ebenfalls unter Argon gelagert und durch Elementaranalyse charakterisiert. Die Ausbeute beträgt 44 % (6,47 g, 22 mmol).

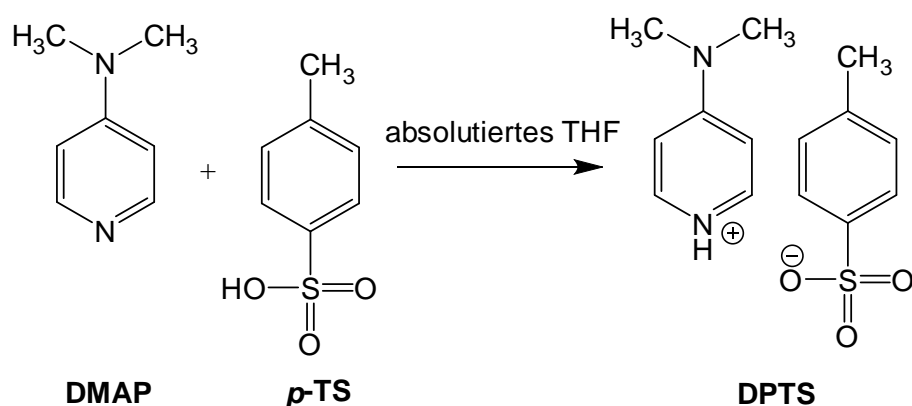


Abbildung 10: Reaktionsgleichung der Bildung des DPTS.

Synthese von [5-(1,2-Dithiolan-3-yl)-1-oxopentyl]polyethylenglycolsorbitanmonolaurat (TD₂₀-a)

Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonolaurat (Tween 20) (7,186 g, 5,866 mmol), Liponsäure (1,209 g, 5,866 mmol) und DPTS (1,897 g, 6,45 mmol) werden in 50 mL absolutem Dichlormethan gemischt und etwa 1 h bei Raumtemperatur unter Argon gerührt, bis die Lösung klar ist. Dann wird unter Eiskühlung N,N'-dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (6,45 mL, 6,45 mmol, als 1 M Lösung in Dichlormethan) zu der Lösung hinzu gegeben. Anschließend wird die Lösung bei Raumtemperatur gerührt. Nach einigen Minuten wird die gelbe Lösung durch die Bildung des Feststoffs N,N'-dicyclohexylharnstoff getrübt. Die Reaktionsmischung wird noch über Nacht 16 h gerührt. Anschließend wird die Lösung bei -30 °C 3 h gekühlt und mit Hilfe einer D-IV-Fritte unter Argon der Feststoff sofort filtriert. Die flüssige Phase wird fünf Mal mit 25 mL Reinstwasser gewaschen. Für eine bessere Phasentrennung wird eine gesättigte NaCl-Lösung hinzugefügt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Nacht über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und anschließend im Hochvakuum konzentriert. Das Produkt, eine gelbe ölige Flüssigkeit, wird unter Argon gelagert und mittels ¹H-NMR-Spektroskopie charakterisiert. Die Ausbeute beträgt 88 % (7,34 g, 5,18 mmol).

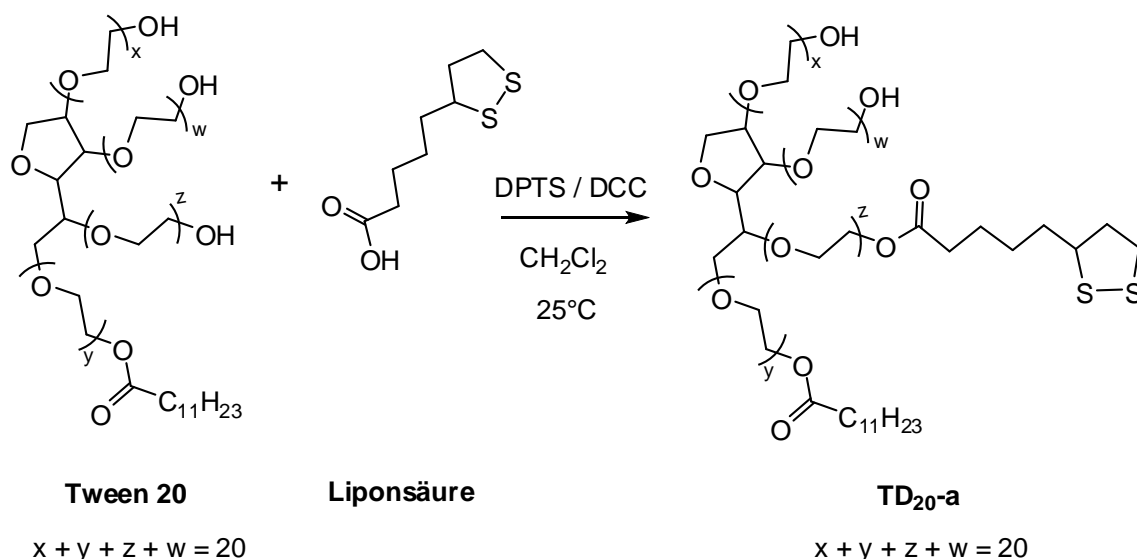


Abbildung 11: Reaktionsgleichung der Bildung des TD₂₀-a.

Synthese von (6,8-Dimercapto-1-oxooctyl)polyethylenglycolsorbitanmonolaurat (TD₂₀-L)

TD₂₀-a (7,34 g, 5,179 mmol) wird in 20 mL Ethanol und 40 mL Reinstwasser gelöst und durch ein Eisbad gekühlt. Anschließend wird NaBH₄ (0,335 g, 8,856 mmol), gelöst in 40 mL Reinstwasser, langsam zu der Lösung getropft. Das Verhältnis von Ethanol zu Reinstwasser beträgt nach dem Zutropfen im Reaktionskolben 1:4. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht 16 h bei Raumtemperatur gerührt, bis die Lösung farblos ist. Die verbleibende Lösung wird mit 50 mL Reinstwasser verdünnt, 15 mL einer gesättigten wässrigen NaCl-Lösung hinzugefügt, ehe fünf Mal mit 50 mL Chloroform extrahiert wird. Die vereinigten organischen Phasen werden ein Mal mit 30 mL Reinstwasser gewaschen, welches 0,5 g NaCl enthält. Anschließend wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Produkt wird im Hochvakuum konzentriert und ergibt ein gelbes Öl. Das Produkt wird unter Argon gelagert und mittels ¹H-NMR-Spektroskopie charakterisiert. Die Ausbeute beträgt 93 % (6,83 g, 4,81 mmol).

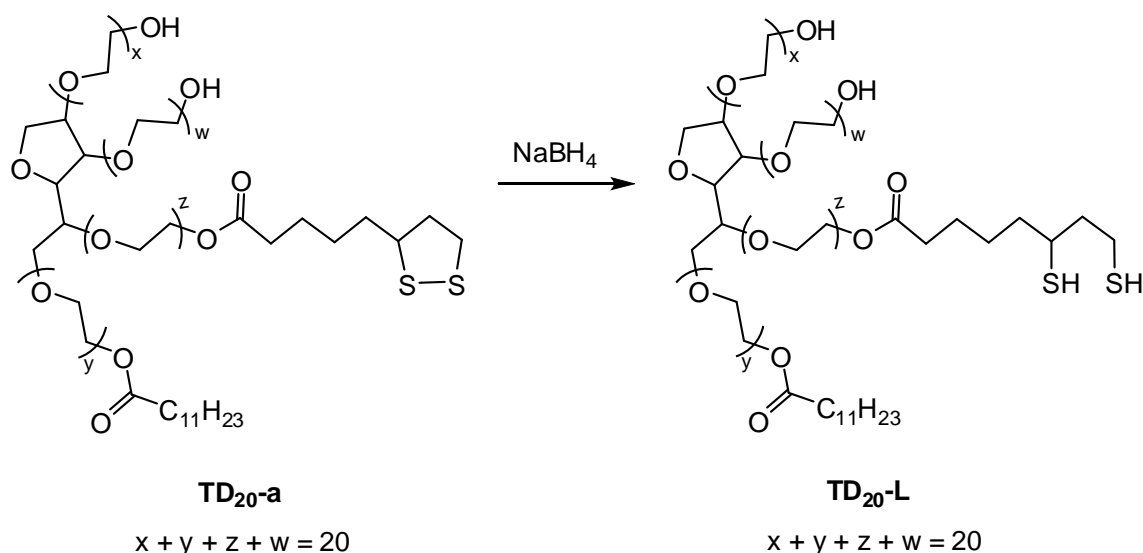


Abbildung 12: Reaktionsgleichung der Bildung des $\text{TD}_{20\text{-L}}$.

4.3. Synthese von Gold-Nanopartikeln

Synthese mittels Polyol-Prozess

Beim Polyol-Prozess wird das Goldsalz *in situ* durch das Lösemittel reduziert. Zur Synthese der in dieser Arbeit dargestellten Gold-Nanopartikel wird das Ethylenglykol verwendet. Das stabilisierende Polymer ist das Polyvinylpyrrolidon (PVP).

Das eingesetzte PVP hat eine mittlere Molmasse von 40000 g mol^{-1} (40 kDa). Die für das PVP angegebenen Stoffmengen beziehen sich auf das Monomer. Es wird mit drei verschiedenen Stoffmengenverhältnissen von PVP zu Gold gearbeitet, da das Verhältnis von Polymer zu Gold einen Einfluss auf die Form und Größe der Nanopartikel ausübt. Die Synthese erfolgt nach einem von *Yang et al.* modifizierten Polyol-Prozess.^[28]

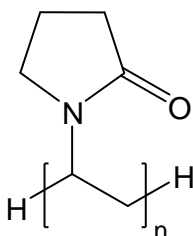


Abbildung 13: Lewis-Struktur der Monomereinheit des Polymers Poly(N-vinylpyrrolidon) (PVP).

Synthese mit einem Stoffmengenverhältnis von PVP zu Au von 4,3 zu 1

In einem Becherglas werden 1,27 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend einem Goldgehalt von 5 mg ($2,54 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$), bei 70°C bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit 10 mL Ethylenglykol aufgenommen. Anschließend werden 30 mL Ethylenglykol in einem Becherglas unter starkem Rühren auf 200°C erhitzt und mit einem Uhrglas bedeckt. Nach dem Erreichen der vorgegeben Temperatur wird zunächst eine Lösung aus 12,13 mg PVP ($1,092 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$) in 10 mL Ethylenglykol schnell hinzu gegeben. Danach erfolgt die tropfenweise Zugabe der Gold-Lösung mit einer Pasteurpipette. Die Lösung ändert die Farbe von farblos zu einem leichten Rosa, und bei weiterer Zugabe der Gold-Lösung zu Purpur. Nach vollständiger Zugabe der Gold-Lösung wird das Reaktionssol noch 45 min bei 200°C unter starkem Rühren belassen. Das Reaktionssol besitzt am Ende der Reaktion eine rostrote Farbe. Nach dem Abkühlen der Dispersion wird diese zunächst mit dem gleichen Volumen Aceton versetzt und die Gold-Nanopartikel anschließend mittels Ultrazentrifuge 30 min bei 30000 U min^{-1} (66107 g) vom Dispersionsmittel abgetrennt. Nach dem Entfernen des Ethylenglykol/Aceton-Gemisches werden die Gold-Nanopartikel in Reinstwasser redispergiert. Hierzu wird eine Ultraschallbehandlung für wenige Minuten verwendet. Die Nanopartikel werden anschließend mit einer Ultrazentrifuge für 20 min bei 20000 U min^{-1} (29400 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch REM und DLS.

Synthese mit einem Stoffmengenverhältnis von PVP zu Au von 6,5 zu 1

Die Durchführung ist mit der zuvor beschriebenen identisch. Der Unterschied besteht in der Menge des eingesetzten PVP (18,34 mg, $1,649 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$). Die Goldmenge sowie die Volumina bleiben unverändert.

Synthese mit einem Stoffmengenverhältnis von PVP zu Au von 8,6 zu 1

Die Durchführung ist mit der zuvor beschriebenen identisch. Der Unterschied besteht in der Menge des eingesetzten PVP (24,26 mg, $2,183 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$). Die Goldmenge sowie die Volumina bleiben unverändert.

Standard-Citrat-Methode

Die Standard-Citrat-Methode basiert auf den Forschungsarbeiten von *Turkevich et al.* Das Trinatriumcitrat-Dihydrat ist bei der Synthese sowohl Reduktionsmittel als auch Stabilisator.^[93]

In einem 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,27 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend einer Goldmenge von 5 mg ($2,54 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Dann erfolgt die schnelle Zugabe einer Lösung von 50 mg Trinatriumcitrat-Dihydrat ($1,70 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$), gelöst in 5 mL Reinstwasser. Nach 20 min wird die weinrote Farbe der Dispersion erhalten und das Reaktionssol noch eine Stunde bei 100°C belassen. Nach dem langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur werden die Gold-Nanopartikel mit einer Ultrazentrifuge für 20 min bei 20000 U min^{-1} (29400 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch REM, TEM, DLS und Analytische Scheibenzentrifugation.

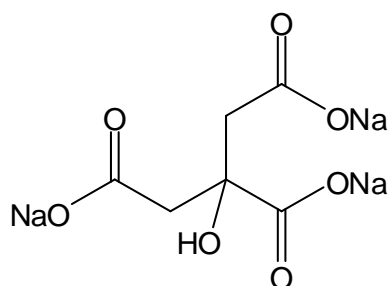


Abbildung 14: Lewis-Struktur des Trinatriumcitrats.

Reduktion mit Citrat nach der Standard-Citrat-Methode und Stabilisierung durch den Phosphan-Liganden Tris(natrium-*m*-sulfonatophenyl)phosphan (TPPTS)

Die Umfunktionalisierung der Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel durch den Phosphan-Ligand TPPTS geht auf Forschungsarbeiten von *Schmid et al.* zurück.^[162] Die umfunktionalisierten Nanopartikel besitzen eine erhöhte Stabilität gegenüber den Citrat-stabilisierten Partikeln.

In einem 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,27 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogold-

säure, entsprechend einem Goldgehalt von 5 mg ($2,54 \cdot 10^{-5}$ mol), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Dann erfolgt die schnelle Zugabe einer Lösung von 50 mg Trinatriumcitrat-Dihydrat ($1,70 \cdot 10^{-4}$ mol), gelöst in 5 mL Reinstwasser. Nach 20 min wird die weinrote Farbe der Dispersion erhalten und das Reaktionssol noch eine Stunde bei 100 °C belassen. Nach dem langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur wird eine Lösung von 5 mg Tris(natrium-*m*-sulfonatophenyl)-phosphan ($8,80 \cdot 10^{-6}$ mol) in 5 mL Reinstwasser zugegeben. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 14 h erfolgt die Isolierung der stabilisierten Gold-Nanopartikel. Diese werden mit einer Ultrazentrifuge für 20 min bei 20000 U min⁻¹ (29400 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch REM, TEM, DLS und Analytische Scheibenzentrifugation.

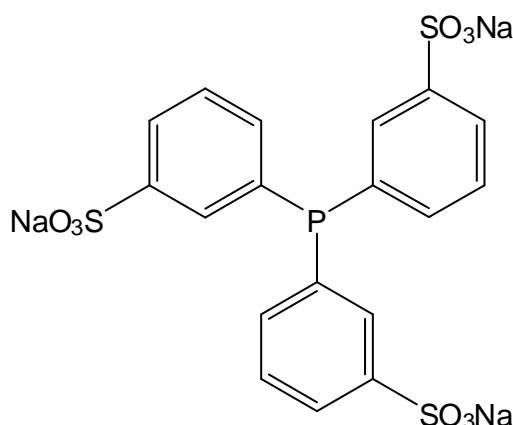


Abbildung 15: Lewis-Struktur von Tris(natrium-*m*-sulfonatophenyl)phosphan (TPPTS).

Reduktion mit Citrat nach der Standard-Citrat-Methode und Stabilisierung durch das Polymer Polyvinylpyrrolidon (PVP)

In einem 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,27 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend einem Goldgehalt von 5 mg ($2,54 \cdot 10^{-5}$ mol), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Dann erfolgt die schnelle Zugabe einer Lösung von 50 mg Trinatriumcitrat-Dihydrat ($1,70 \cdot 10^{-4}$ mol), gelöst in 5 mL Reinstwasser. Nach 20 min wird die weinrote Farbe der Dispersion erhalten und das Reaktionssol noch eine Stunde bei 100 °C belassen. Nach dem langsamen Abkühlen

auf Raumtemperatur wird eine Lösung von 12,2 mg Polyvinylpyrrolidon (PVP, 40 kDa; $3 \cdot 10^{-7}$ mol bezogen auf das mittlere Molekulargewicht) in 5 mL Reinstwasser zugegeben. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 14 h erfolgt die Isolierung der stabilisierten Gold-Nanopartikel. Diese werden mit einer Ultrazentrifuge für 20 min bei 20000 U min^{-1} (29400 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch REM, TEM, DLS, NTA und Analytische Scheibenzentrifugation.

Reduktion mit Citrat nach der Standard-Citrat-Methode und Stabilisierung durch den Thiol-Liganden (6,8-Dimercapto-1-oxooctyl)polyethylenglykol-sorbitanmonolaurat (TD₂₀-L)

In einem 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,27 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend einem Goldgehalt von 5 mg ($2,54 \cdot 10^{-5}$ mol), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Dann erfolgt die schnelle Zugabe einer Lösung von 50 mg Trinatriumcitrat-Dihydrat ($1,70 \cdot 10^{-4}$ mol), gelöst in 5 mL Reinstwasser. Nach 20 min wird die weinrote Farbe der Dispersion erhalten und das Reaktionssol noch eine Stunde bei 100°C belassen. Nach dem langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur wird eine Lösung von 1 mg TD₂₀-L ($7 \cdot 10^{-7}$ mol) in 0,3 mL Reinstwasser zugegeben. Dabei verändert sich geringfügig die Farbe der Dispersion. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 14 h erfolgt die Isolierung der stabilisierten Gold-Nanopartikel. Diese werden mit einer Ultrazentrifuge für 20 min bei 20000 U min^{-1} (29400 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch REM, TEM, DLS, Analytische Scheibenzentrifugation, UV-Vis- und IR-Spektroskopie.

Reduktion mit verminderter Citrat-Konzentration und Stabilisierung durch den Phosphan-Liganden Tris(natrium-*m*-sulfonatophenyl)phosphan (TPPTS)

In ein 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,27 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend 5 mg Gold ($2,54 \cdot 10^{-5}$ mol), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Dann erfolgt die schnelle Zugabe einer Lösung von 5 mg

Trinatriumcitrat-Dihydrat ($1,70 \cdot 10^{-5}$ mol), gelöst in 5 mL Reinstwasser. Innerhalb weniger Minuten färbt sich das Reaktionssol blaugrau, dann türkis und schließlich rostbraun. Um die Reaktion zu vervollständigen, wird die Dispersion noch eine Stunde bei 100 °C belassen. Nach dem langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur wird dem Reaktionssol eine Lösung von 5 mg TPPTS ($8,80 \cdot 10^{-6}$ mol) in 5 mL Reinstwasser zugesetzt. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 14 h erfolgt die Isolierung der stabilisierten Gold-Nanopartikel. Diese werden mit einer Zentrifuge für 30 min bei 4000 U min⁻¹ (2146 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Das Redispergieren erfolgt mittels Ultraschallbehandlung für wenige Minuten. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch REM, TEM, DLS und Analytische Scheibenzentrifugation.

Reduktion mit verminderter Citrat-Konzentration und Stabilisierung durch das Polymer Polyvinylpyrrolidon (PVP)

In ein 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,27 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend 5 mg Gold ($2,54 \cdot 10^{-5}$ mol), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Dann erfolgt die schnelle Zugabe einer Lösung von 5 mg Trinatriumcitrat-Dihydrat ($1,70 \cdot 10^{-5}$ mol), gelöst in 5 mL Reinstwasser. Innerhalb weniger Minuten färbt sich das Reaktionssol blaugrau, dann türkis und schließlich rostbraun. Um die Reaktion zu vervollständigen, wird die Dispersion noch eine Stunde bei 100 °C belassen. Nach dem langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur wird dem Reaktionssol eine Lösung von 12,2 mg PVP (40 kDa, $3 \cdot 10^{-7}$ mol bezogen auf das mittlere Molekulargewicht) in 5 mL Reinstwasser zugesetzt. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 14 h erfolgt die Isolierung der stabilisierten Gold-Nanopartikel. Diese werden mit einer Zentrifuge für 30 min bei 4000 U min⁻¹ (2146 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Das Redispergieren erfolgt mittels Ultraschallbehandlung für wenige Minuten. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch REM, TEM, DLS und Analytische Scheibenzentrifugation.

Reduktion mit Gerbsäure und Stabilisierung durch den Phosphan-Liganden Tris(natrium-*m*-sulfonatophenyl)phosphan TPPTS

Die Darstellung von Gold-Nanopartikeln mittels Gerbsäure führt zu kugelförmigen Partikeln, die eine geringere Größe besitzen als die Citrat-reduzierten Nanopartikel.^[26]

In einem 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,76 mL ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend einem Goldgehalt von 5 mg ($2,54 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Ist die Zieltemperatur von 100°C erreicht, werden die zuvor in 10 mL Bechergläsern eingewogenen Mengen Gerbsäure (12,5 mg; $7,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol}$) und Trinatriumcitrat-Dihydrat (50 mg, $1,70 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$) in je 2,5 mL Reinstwasser gelöst und kurz vor der Zugabe gemischt. Die Reduktionslösung wird nun schnell zu der heißen Goldsäurelösung gegeben. Nach wenigen Sekunden verändert die Lösung ihre Farbe von gelb nach tiefrot. Zur Sicherstellung eines möglichst vollständigen Umsatzes der Goldsäure wird das Reaktionssol weitere fünf Minuten bei 100°C belassen. Nach dem langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur wird eine Lösung von 6 mg TPPTS ($1,056 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$) in 5 mL Reinstwasser zugegeben. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 14 h erfolgt die Isolierung der stabilisierten Gold-Nanopartikel. Diese werden mit einer Ultrazentrifuge für 30 min bei 30000 U min^{-1} (66107 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch TEM, DLS und Analytische Scheibenzentrifugation.

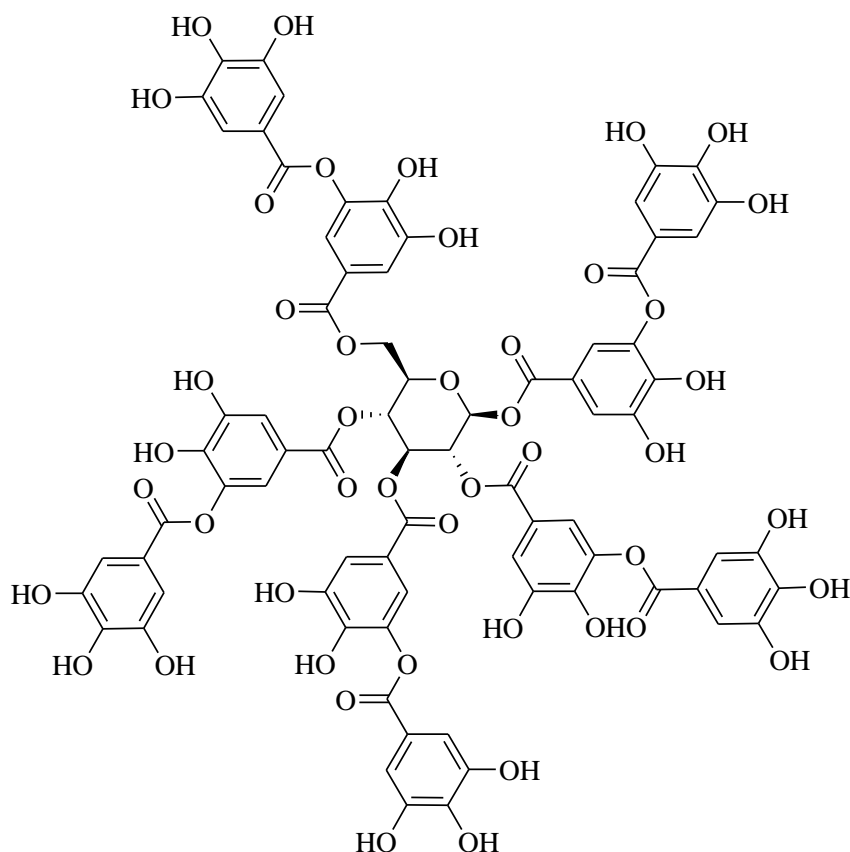


Abbildung 16: Lewis-Struktur eines Gerbsäure-Moleküls ($C_{76}H_{52}O_{46}$, $M = 500\text{-}3000\text{ Da}$).

Reduktion mit Gerbsäure und Stabilisierung durch das Polymer Polyvinylpyrrolidon (PVP)

In einem 250 mL Becherglas werden 90 mL Reinstwasser unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend werden 1,76 mL ($0,02\text{ mol L}^{-1}$) der Tetrachlorogoldsäure, entsprechend einem Goldgehalt von 5 mg ($2,54 \cdot 10^{-5}\text{ mol}$), zugegeben und das Becherglas mit einem Uhrglas bedeckt. Ist die Zieltemperatur von $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ erreicht, werden die zuvor in 10 mL Bechergläsern eingewogenen Mengen Gerbsäure (12,5 mg, $4,17 \cdot 10^{-6}\text{ mol}$ - $2,5 \cdot 10^{-5}\text{ mol}$, $M = 500\text{-}3000\text{ Da}$) und Trinatriumcitrat-Dihydrat (50 mg; $1,70 \cdot 10^{-4}\text{ mol}$) in je 2,5 mL Reinstwasser gelöst und kurz vor der Zugabe gemischt. Die Reduktionslösung wird nun schnell zu der heißen Goldsäurelösung gegeben. Nach wenigen Sekunden verändert die Lösung ihre Farbe von gelb nach tiefrot. Zur Sicherstellung eines möglichst vollständigen Umsatzes der Goldsäure wird das Reaktionssol weitere fünf Minuten bei $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ belassen. Nach dem langsamen Abkühlen auf Raumtemperatur wird eine Lösung von 10 mg PVP

(40 kDa, $3 \cdot 10^{-7}$ mol bezogen auf das mittlere Molekulargewicht) in 5 mL Reinstwasser zugegeben. Es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 14 h erfolgt die Isolierung der stabilisierten Gold-Nanopartikel. Diese werden mit einer Ultrazentrifuge für 30 min bei 30000 U min^{-1} (66107 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Die Goldkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Gold-Nanopartikel erfolgt durch TEM, DLS und Analytische Scheibenzentrifugation.

4.4. Synthese von Silber-Nanopartikeln mittels Glukose

Die Synthese der Silber-Nanopartikel findet in wässriger Phase statt. Als Reduktionsmittel dient Glukose. Die Stabilisierung erfolgt durch das Polymer PVP.^[61] In einem 100 mL Becherglas werden 40 mL Reinstwasser gegeben, in welchem zuvor Glukose (2 g, $1,1 \cdot 10^{-2}$ mol) und PVP (1 g, 40 kDa, $2,5 \cdot 10^{-5}$ mol bezogen auf das mittlere Molekulargewicht) eingewogen worden sind. Die Lösung wird unter mittlerem Rühren auf 90°C erhitzt. Dann wird Silbernitrat (0,5 g, $2,94 \cdot 10^{-3}$ mol) in 1 mL Reinstwasser gelöst und schnell zu der heißen Polymer-Glukose-Lösung gegeben. Die Dispersion wird für eine weitere Stunde mit einem Uhrglas abgedeckt bei 90°C belassen. Während dieser Stunde färbt sich das Reaktionssol langsam grau. Anschließend wird die Dispersion langsam auf Raumtemperatur gekühlt und die erhaltenen Silber-Nanopartikel mit einer Ultrazentrifuge für 30 min bei 30000 U min^{-1} (66107 g) abzentrifugiert und durch anschließendes Redispergieren gereinigt. Das Redispergieren erfolgt mittels Ultraschallbehandlung für wenige Minuten. Die Silberkonzentration wird mittels AAS ermittelt. Die Charakterisierung der Silber-Nanopartikel erfolgt durch REM, TEM, DLS, NTA und Analytische Scheibenzentrifugation.

4.5. Agglomerationsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln in unterschiedlichen biologischen Medien

Die Goldkonzentration der synthetisierten TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel betrug $477,56 \text{ mg L}^{-1}$, die der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel $466,2 \text{ mg L}^{-1}$. Jeweils $50 \mu\text{L}$ der Gold-Dispersionen wurden mit 1 mL der Zellkulturmedien gemischt und 20 min in der Dunkelheit gelagert. Anschließend erfolgte die Untersuchung mittels Dynamischer Lichtstreuung. Es wurde RPMI 1640 (GIBCO) der Firma

Invitrogen GmbH verwendet. Das fötale Kälberserum (FCS) (GIBCO) stammte von der Firma Invitrogen GmbH, das Rinderserumalbumin (*Bovine serum albumin*, BSA) stammte von der Firma Serva Electrophoresis GmbH. Die Konzentrationen an FCS in RPMI variierten zwischen 0,001 und 10 Gew.-%, im Fall des BSA in RPMI zwischen 1 und 10 Gew.-%. Die verschiedenen Zellkulturmedien wurden von Frau Dipl.-Biol. Christina Greulich, chirurgische Forschung am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum, bereitgestellt.

4.6. Bestimmung der Funktionalisierung von Gold-Nanopartikeln mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie

Die Gold-Nanopartikel wurden durch Reduktion von HAuCl_4 (0,406 mmol, entsprechend 80 mg Au) mit 800 mg Trinatriumcitrat-Dihydrat (2,72 mmol) in 1,5 L Reinstwasser unter Rückfluss bei 100 °C für 80 min dargestellt. Danach wurde das Reaktionssol langsam auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Citrat-stabilisierten Nanopartikel wurden erhalten, indem die größte Wassermenge mit einem Rotationsverdampfer entfernt wurde. Die konzentrierte Dispersion wurde mit etwa 200 mL aufgenommen und 20 min bei 20000 U min⁻¹ (29400 g) ultrazentrifugiert. Die erhaltenen Nanopartikel wurden isoliert und gefriergetrocknet. Die Ausbeute betrug 77 mg.

Die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden dargestellt, indem zu dem Reaktionssol 80 mg TPPTS (0,141 mmol) gegeben wurden. Die Dispersion wurde für 12 h über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend für 20 min bei 20000 U min⁻¹ (29400 g) ultrazentrifugiert, einmalig in Reinstwasser redispergiert und durch eine abschließende Zentrifugation isoliert. Die erhaltenen Nanopartikel wurden gefriergetrocknet, um das überschüssige Wasser zu entfernen. Die Ausbeute betrug 72 mg.

Die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden erhalten, indem dem Reaktionssol nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur unterschiedliche PVP-Konzentrationen (33 mg L⁻¹, 66 mg L⁻¹, 128 mg L⁻¹) zugesetzt wurden. Die Dispersionen wurden für 12 h über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend für 20 min bei 20000 U min⁻¹ (29400 g) ultrazentrifugiert, zweimalig in Reinstwasser redispergiert und durch eine abschließende Zentrifugation isoliert. Die erhaltenen Nanopartikel wurden danach gefriergetrocknet. Die Ausbeute betrug 53,4 mg (33 mg L⁻¹ PVP), 55,8 mg (66 mg L⁻¹ PVP) und 44,3 mg (128 mg L⁻¹ PVP).

Für die Untersuchungen des Adsorptionsverhaltens wurden je drei Lösungen des Rinderserumalbumin (*Bovine serum albumin*, BSA, Fraktion V, Protease-frei, lyophilisiert, $M_r = 67000 \text{ g mol}^{-1}$, Serva) mit unterschiedlichen Massenanteilen von 1 Gew.-% ($c = 10 \text{ g L}^{-1}$), 0,1 Gew.-% ($c = 1 \text{ g L}^{-1}$) und 0,01 Gew.-% ($c = 0,1 \text{ g L}^{-1}$) erstellt. Die Massenanteile wurden auf 1 L Reinstwasser bezogen. Diesen Lösungen wurden sowohl PVP- als auch TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel bekannter Goldkonzentration ($61,25 \text{ mg L}^{-1}$) unter kontinuierlichem Rühren zugesetzt. Die Dispersionen wurden für 12 h über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, um eine Gleichgewichtseinstellung zwischen Adsorption und Desorption zu gewährleisten. Die Gold-Nanopartikel wurden mittels Ultrazentrifugation 20 min bei 20000 U min^{-1} (29400 g) und anschließend Redispergieren gereinigt. Die Gold-Nanopartikel, die einer Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-% BSA zugesetzt waren, wurden zweimal zentrifugiert und redispergiert. Für die beiden übrigen BSA-Konzentrationen erfolgte jeweils nur eine einmalige Reinigung der Gold-Nanopartikel. Die Nanopartikel wurden mittels Ultrazentrifugation konzentriert und mit flüssigem Stickstoff gefroren. Anschließend erfolgte bei einer Temperatur von -7 °C und einem Druck von $0,31 \text{ mbar}$ die Lyophilisation. Der gewonnene Feststoff stand sowohl für eine Elementaranalyse als auch für eine thermogravimetrische Untersuchung zur Verfügung.

4.7. Zellbiologische Untersuchungen

Für die zellbiologischen Untersuchungen wurden humane mesenchymale Stammzellen (*human mesenchymal stem cells*, hMSC, Lonza, Walkersville Inc., MD, USA) verwendet. Diese wurden in RPMI (1640, GIBCO, Invitrogen GmbH) unter Zusatz von 10 % FCS in L-Glutamin ($0,3 \text{ g L}^{-1}$, GIBCO, Invitrogen GmbH) bei 37 °C , hoher Luftfeuchtigkeit und 5 % CO_2 in einem Inkubator gehalten. Die adhärenenten Zellen wurden anschließend mit PBS (GIBCO, Invitrogen GmbH) gewaschen und durch die Zugabe von $0,2 \text{ mL cm}^{-2}$ 0,25 % Trypsin-0,1 % Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA, Sigma-Aldrich) aus den Zellkulturflaschen heraus gelöst. Die humanen mesenchymalen Stammzellen wurden vereinigt und zwei weitere Male mit RPMI mit einem Massenanteil an FCS von 10 % gewaschen. Diese wurden dann für 24 h bei 37 °C unter Zellkulturbedingungen mit PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, die mit der Standard-Citrat-Methode dargestellt wurden, inkubiert. Die

Goldkonzentration variierte zwischen 5 und 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. In der Kontrolle waren keine Gold-Nanopartikeln. Die Viabilitätsuntersuchungen erfolgten mit dem Fluoreszenzfarbstoff Calcein-Acetoxymethylester (Calcein-AM, Calbiochem). Die Zellen wurden nach 24 h Inkubationszeit mit den Gold-Nanopartikeln zwei Mal mit RPMI gewaschen und anschließend für 30 min unter Zellkulturbedingungen mit dem Farbstoff Calcein-AM inkubiert. Die adhärennten Zellen wurden wiederum mit RPMI gewaschen und anschließend mittels Fluoreszenzmikroskopie (Olympus MVX10, Olympus) analysiert. Die Untersuchung der Chemotaxis erfolgte mit humanen mesenchymalen Stammzellen, die für drei Tage unter Zellkulturbedingungen bei 37 °C mit PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, die nach der Standard-Citrat-Methode dargestellt wurden, inkubiert wurden. Die Goldkonzentration variierte zwischen 5 und 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Die fortgezogenen Zellen wurden an der herabgelassenen Filteroberfläche mittels Calcein-AM quantifiziert. Die Freisetzung der Interleukine IL-6, IL-8, IL-11 und des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF) von den humanen mesenchymalen Stammzellen wurde durch ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) im Überstand der Zellen ermittelt. Die Zellen wurden zuvor mit Gold-Nanopartikeln für 24 h inkubiert. Die Goldkonzentration variierte zwischen 5 und 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Die zellbiologischen Untersuchungen wurden von Frau Dipl.-Biol. Christina Greulich, chirurgische Forschung am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum, durchgeführt.

4.8. Untersuchung einer bimodalen Dispersion aus Gold- und Silber-Nanopartikeln

Die Synthese der Silber-Nanopartikel erfolgte wie unter 4.4 beschrieben, die Synthese der Gold-Nanopartikel erfolgte wie unter 4.3 beschrieben. Nach der Synthese und Reinigung erfolgte die Bestimmung der Silber- bzw. Gold-Konzentration mittels AAS. Sowohl die Silber-Nanopartikel als auch die Gold-Nanopartikel wurden auf eine Metallkonzentration von 37,3 mg L^{-1} eingestellt. Anschließend erfolgte die Darstellung des 1:1 Gemisches aus Silber- und Gold-Nanopartikeln, indem gleiche Volumina beider Partikel-Dispersionen gemischt wurden. Die Metall-Konzentrationen in dem Gemisch betrugen sowohl für das Silber als auch für das Gold 18,65 mg L^{-1} . Anschließend erfolgte die Charakterisierung der Nanopartikel. Die Rasterelektronenmikroskopie wurde bei 30 kV und einer Spot Size von 0,4 (Gold) bzw. 0,6 (Silber, 1:1 Gemisch) durchgeführt. Hierbei kam ein Sekundärelektronendetektor zum Einsatz.

Transmissionselektronenmikroskopie wurde bei 200 kV durchgeführt. Hierbei wurde ein Tropfen der verdünnten Dispersion auf ein Kohlenstoff-beschichtetes Kupfernetz aufgetragen. Die Dynamische Lichtstreuung sowie die Bestimmung des Zetapotentials erfolgten mit einem 633 nm-Laser und 25 °C. Es kam ein Festwinkeldetektor zum Einsatz, der einen Winkel von 173 ° zum eingestrahlten Laser aufwies. Die Primärdaten wurden aus der Korrelationsfunktion und der Streulichtintensität gewonnen. Die Analytische Scheibenzentrifugation erfolgte bei 25 °C und 24000 U min⁻¹ (28900 g). Dabei wurden zwei Saccharose-Lösungen mit einem Massenanteil von 8 % und 24 % verwendet, um einen Dichtegradienten zu erstellen. Als Stabilisator diente Dodekan. Der Kalibrations-Standard bestand aus Polyvinylchlorid-Partikeln (PVC) mit einer Größe von 377 nm, welche in Wasser dispergiert vorlagen. Die Wellenlänge des verwendeten Lasers betrug 470 nm. Die Größenbestimmung mittels *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) erfolgte bei 25 °C und einem Laser mit der Wellenlänge von 638 nm. Hierzu wurden die Dispersionen stark verdünnt. Für jede Probe wurden zwischen 1200 und 1700 Wege, die von den Nanopartikeln während der Messung zurückgelegt wurden, ausgewertet. Die Partikelkonzentration lag zwischen $5 \cdot 10^8$ und $8 \cdot 10^8$ Partikeln mL⁻¹.

5. Ergebnisse und Diskussion

5.1. Charakterisierung der Gold-Nanopartikel

5.1.1. Charakterisierung der Polyvinylpyrrolidon-stabilisierten Gold-Nanopartikel dargestellt durch den Polyol-Prozess

Von den mit unterschiedlichen PVP/Au-Stoffmengenverhältnissen dargestellten Gold-Nanopartikeln wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Die Abbildung 17 zeigt Nanopartikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 4,3 zu 1 synthetisiert wurden. Nahezu alle dargestellten Partikel besitzen eine annähernd kugelförmige Gestalt. Eine größere Anzahl von Nanopartikeln besitzt eine Größe von etwa 70 nm. Zudem sind auch viele deutlich kleinere Partikel erkennbar.

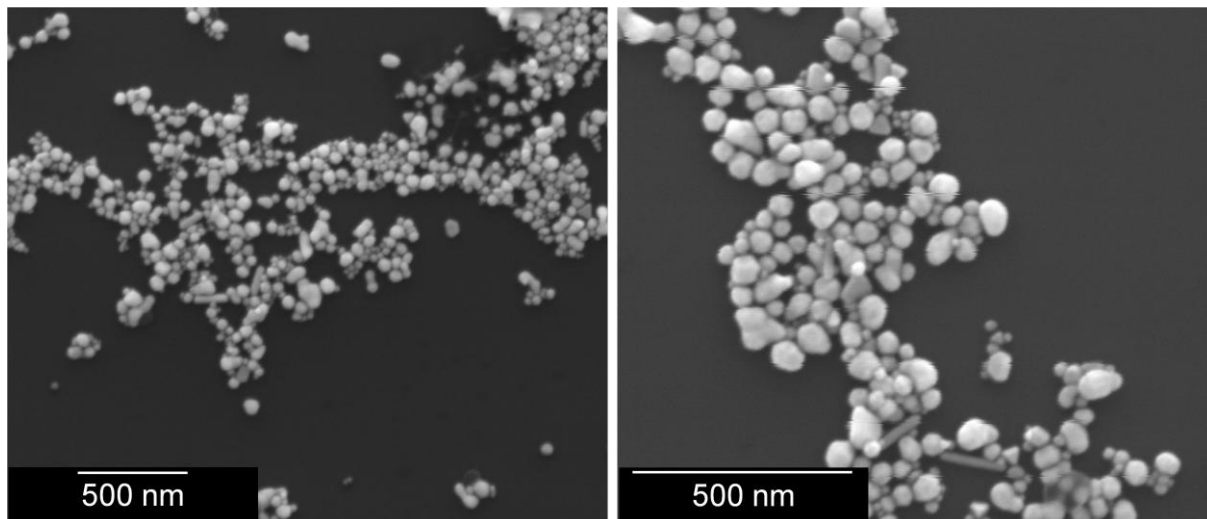


Abbildung 17: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel, dargestellt durch den Polyol-Prozess mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 4,3 zu 1.

Abbildung 18 zeigt Gold-Nanopartikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 6,5 zu 1 dargestellt wurden. Auffällig ist hier, dass eine signifikante Anzahl der Nanopartikel eine dreieckige Form besitzt. Neben plättchenförmigen Partikeln liegen auch Oktaeder- und Tetraederstrukturen vor. Die Partikelgröße ist mit 100 bis 120 nm deutlich einheitlicher als in der in Abbildung 17 dargestellten Probe (PVP/Au = 4,3). Insbesondere sind weniger Partikel erkennbar, die deutlich kleiner sind, als die Hauptfraktion der Nanopartikel.

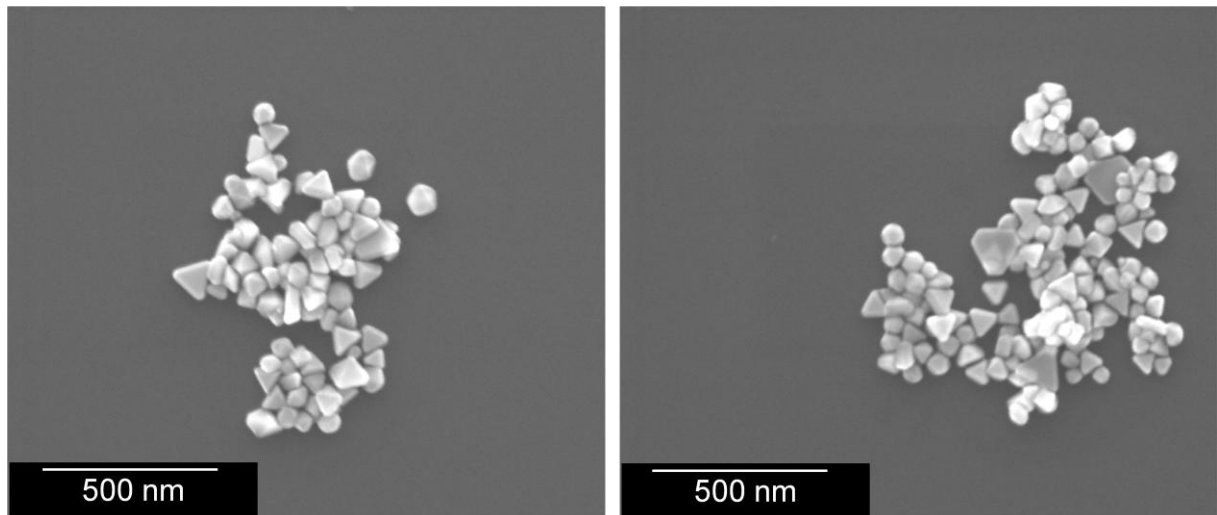


Abbildung 18: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel, dargestellt durch den Polyol-Prozess mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 6,5 zu 1.

Abbildung 19 zeigt die Nanopartikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 8,6 zu 1 erhalten wurden. Die Partikel sind nahezu kugelförmig, allerdings sind sie nicht einheitlich hinsichtlich ihrer Größe. Die Partikelgrößen liegen zwischen 30 und 105 nm.

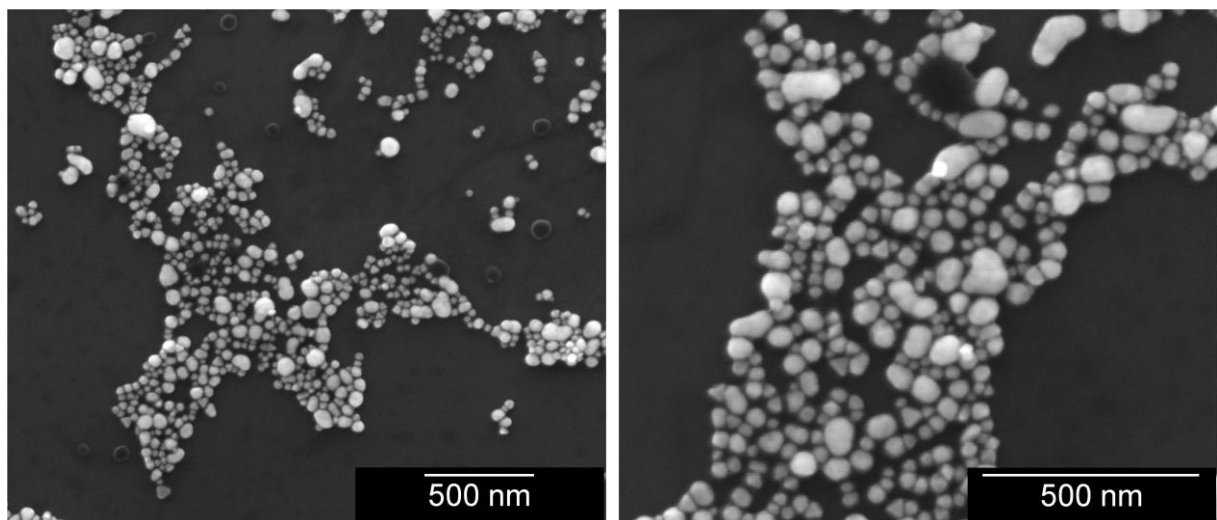


Abbildung 19: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel, dargestellt durch den Polyol-Prozess mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 8,6 zu 1.

Die Nanopartikel-Dispersionen wurden auch mittels Dynamischer Lichtstreuung untersucht. In Abbildung 20 sind die Größenverteilungen der Gold-Nanopartikel für die unterschiedlichen Stoffmengenverhältnisse von PVP zu Au dargestellt.

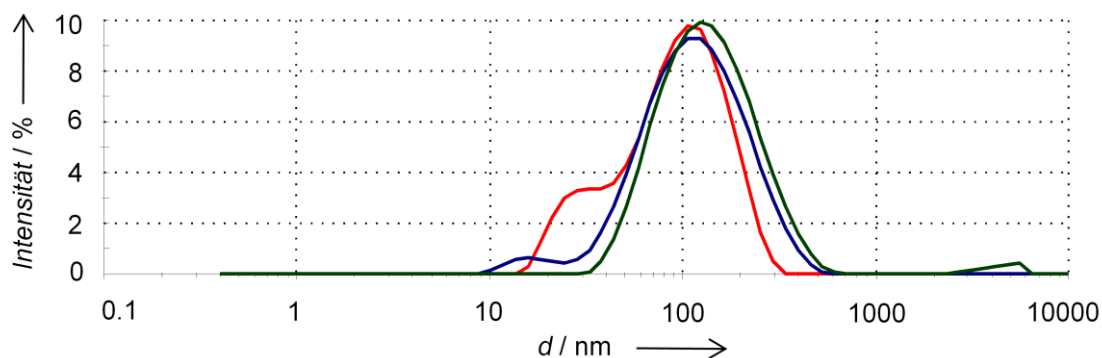


Abbildung 20: Durch die Dynamische Lichtstreuung ermittelte Größenverteilung der Gold-Nanopartikel bei einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 4,3 zu 1 (rot), PVP/Au von 6,5 zu 1 (grün) und PVP/Au von 8,6 zu 1 (blau). Die Abbildung stellt die Streulichtintensität aufgetragen gegen den Durchmesser der Nanopartikel dar.

Die durchschnittliche Partikelgröße, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 4,3 zu 1 (rote Kurve) dargestellt wurde, beträgt 70 nm. Die zwei Maxima liegen bei 28 nm und 112 nm. Der Polydispersitätsindex (PDI) beträgt 0,273. Somit sind die Partikel noch als monodispers zu bezeichnen. Die durchschnittliche Größe der Partikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 6,5 zu 1 (grüne Kurve) dargestellt wurden, beträgt 116 nm. Der Polydispersitätsindex (PDI) beträgt 0,244. Somit sind diese Partikel ebenfalls noch als monodispers anzusehen. Die durchschnittliche Größe der Gold-Nanopartikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 8,6 zu 1 (blaue Kurve) synthetisiert wurden, beträgt 91 nm. Der PDI beträgt 0,334, womit die Dispersion nicht mehr als monodispers anzusehen ist.

Das Zetapotential betrug für die Gold-Nanopartikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 4,3 zu 1 erhalten wurden, -16 mV, für die Partikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 6,5 zu 1 erhalten wurden, -14 mV und für die Partikel, die mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 8,6 zu 1 erhalten wurden, -24 mV.

Die besten Ergebnisse wurden mit einem Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 6,5 zu 1 erhalten. Die Nanopartikel besitzen eine einheitlichere Größe und eine definiertere Form als mit niedrigeren oder höheren PVP/Au-Stoffmengenverhältnissen. Exemplarisch wurde die Ausbeute bezogen auf das Gold für das Stoffmengenverhältnis PVP/Au von 6,5 zu 1 ermittelt. Sie lag in allen Ansätzen zwischen 37 und 45 %. Im weiteren Verlauf der Arbeit wurden die durch den Polyol-Prozess dargestellten Nanopartikel hingegen nicht weiter verwendet, da die Ausbeute zu gering war.

Zudem bestand die Schwierigkeit, die Gold-Nanopartikel hinreichend gut zu reinigen, da sich die Nanopartikel weder mit Reinstwasser noch mit Aceton vom Ethylenglykol befreien ließen. Die Reinigung ist für Zellexperimente oder für die Untersuchung der Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln unabdingbar.

5.1.2. Charakterisierung der mit Citrat stabilisierten Gold-Nanopartikel

Von den mit Citrat reduzierten und stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurde eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme angefertigt, die in Abbildung 21 dargestellt ist. Die Nanopartikel besitzen eine einheitliche kugelförmige Gestalt und eine einheitliche Größe. Die Größe des Goldkerns beträgt etwa 13 nm.

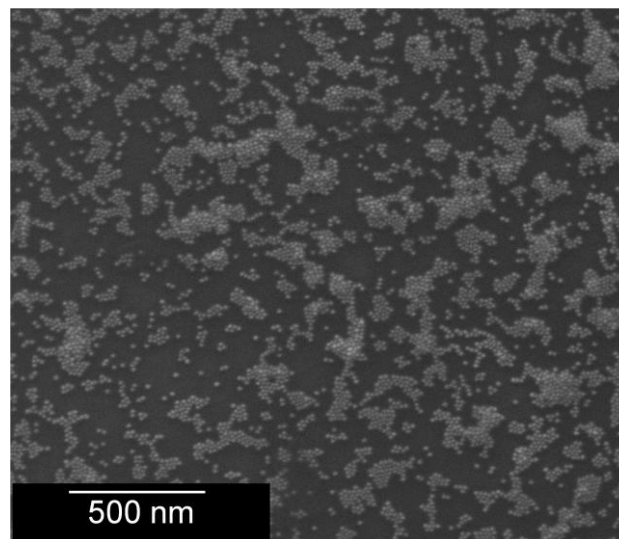


Abbildung 21: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode.

Die Nanopartikel wurden zudem mittels Dynamischer Lichtstreuung charakterisiert (Abbildung 22).

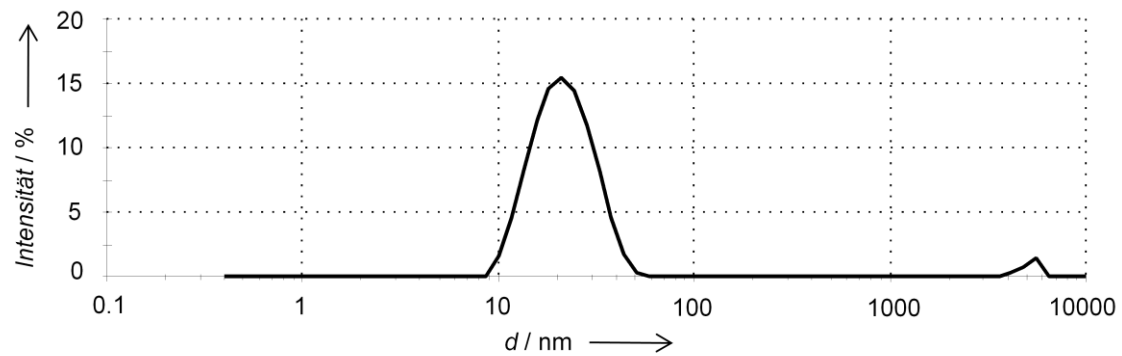


Abbildung 22: Charakterisierung der Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Die Gold-Nanopartikel besitzen einen hydrodynamischen Durchmesser von etwa 21 nm und einen PDI von 0,25 nach der Reinigung. Sie sind somit noch als monodispers anzusehen. Das Zetapotential dieser Partikel beträgt etwa -32 mV, womit sie elektrostatisch stabilisiert wären. Durch die nur geringe van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen der Goldoberfläche und dem sowohl als Reduktionsmittel als auch als Stabilisator fungierenden Citrat, ist eine Reinigung der Nanopartikel mittels Ultrazentrifugation nicht möglich. Die Zentrifugation führt zu einem Agglomerieren der Nanopartikel. Die Reinigung der Nanopartikel erfolgte deshalb mittels Dialyse. Dabei wurde über an drei aufeinander folgenden Tagen jeweils das Dialysat (Reinstwasser) ausgetauscht.

Die Nanopartikel wurden ebenfalls mittels Analytischer Scheibenzentrifugation charakterisiert. Der Durchmesser der Partikel liegt bei etwa 12 nm, was in gutem Einklang mit dem REM-Ergebnis steht. Neben den 12 nm großen Nanopartikeln sind auch einige Agglomerate zu erkennen, die eine Größe von etwa 50 nm besitzen. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 23 dargestellt.

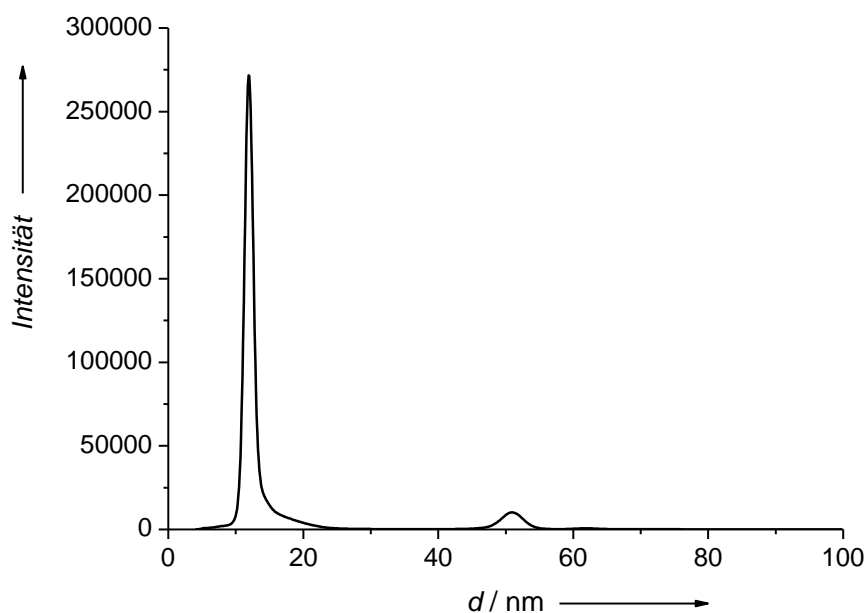


Abbildung 23: Charakterisierung der Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Da die Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel nur schwierig zu reinigen waren und auch nur in sehr geringer Ausbeute erhalten werden konnten, wurden die dargestellten Partikel einer weiteren Stabilisierung mit Liganden oder Polymeren unterworfen, deren Charakterisierung im Folgenden beschrieben werden soll. Die Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden im weiteren Verlauf der Arbeit nicht weiter verwendet.

5.1.3. Charakterisierung der durch Reduktion mit Citrat dargestellten und TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel

Von den mit Citrat reduzierten und TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurde eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme angefertigt, die in Abbildung 24 dargestellt ist. Die Nanopartikel besitzen eine einheitliche kugelförmige Gestalt und eine einheitliche Größe. Die Größe des Goldkerns beträgt etwa 13 nm.

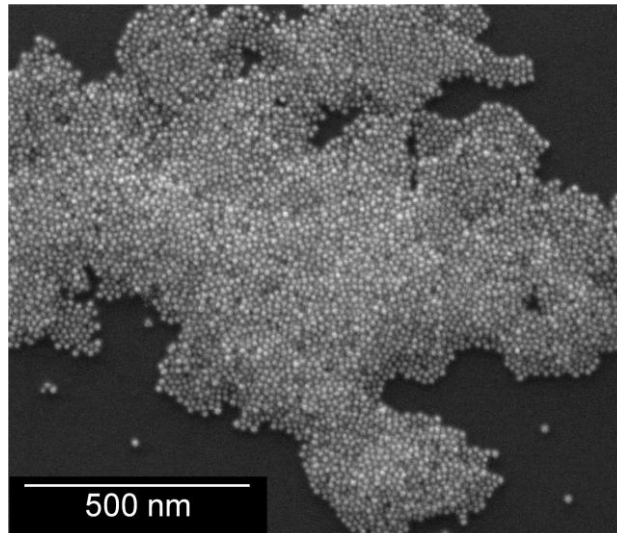


Abbildung 24: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode.

Die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden ebenfalls transmissionselektronenmikroskopisch untersucht. Das Ergebnis ist in Abbildung 25 dargestellt. Die Nanopartikel besitzen eine einheitliche kugelförmige Gestalt und eine einheitliche Größe. Die Größe des Goldkerns beträgt etwa 13 nm. Es ist gut zu erkennen, dass die Gold-Nanopartikel eine verzwilligte Struktur besitzen.

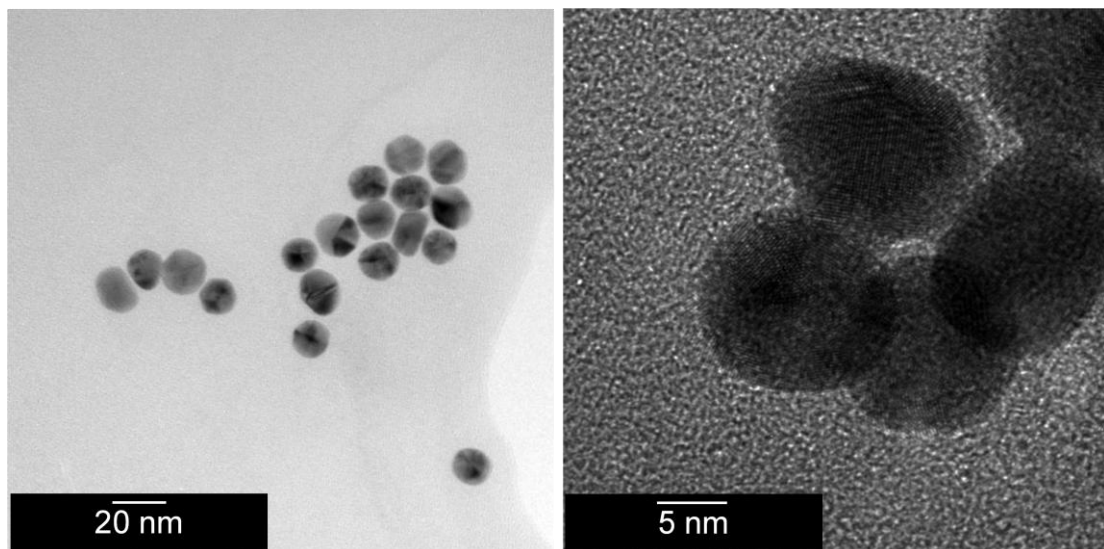


Abbildung 25: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode.

Die Nanopartikel wurden zudem mittels Dynamischer Lichtstreuung charakterisiert. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Abbildung 26 dargestellt.

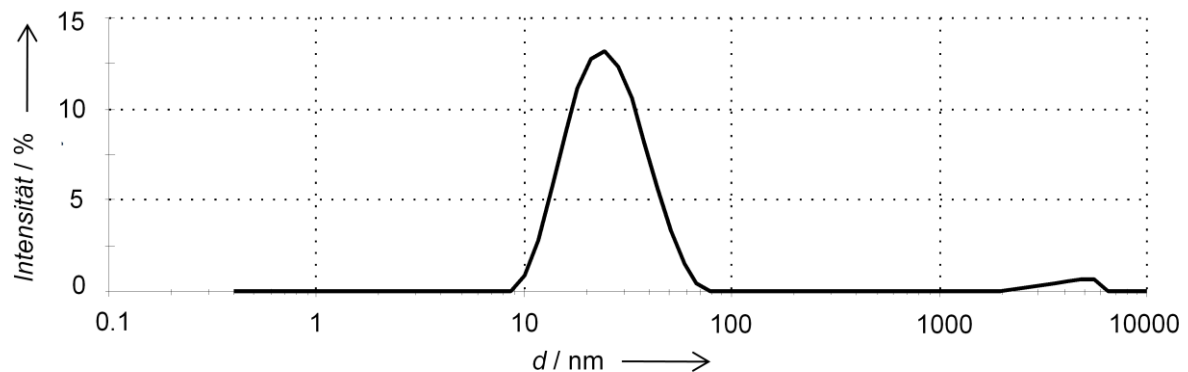


Abbildung 26: Charakterisierung der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Die Gold-Nanopartikel besitzen einen hydrodynamischen Durchmesser von etwa 23 nm und einen PDI von 0,221 nach der Reinigung mittels Ultrazentrifugation. Sie sind somit noch als monodispers anzusehen. Das Zetapotential dieser Partikel betrug etwa -29 mV, womit sie hinreichend elektrostatisch stabilisiert sind.

Die Nanopartikel wurden ebenfalls mittels Analytischer Scheibenzentrifugation charakterisiert. Der Durchmesser der Partikel liegt bei etwa 11 nm, was in gutem Einklang mit den REM- und TEM-Ergebnissen steht. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 27 dargestellt.

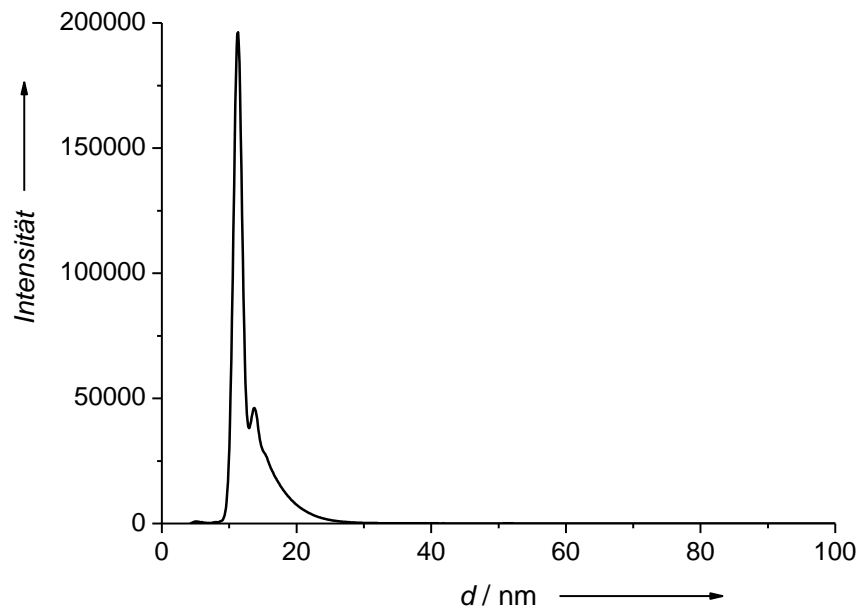


Abbildung 27: Charakterisierung der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden für die Untersuchung der Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln und für die Stabilitätsuntersuchungen in biologischen Medien verwendet. Darüber hinaus wurden die Partikel für die Adsorptionsuntersuchungen von Bovinem Serum Albumin (BSA) verwendet.

5.1.4. Charakterisierung der durch Reduktion mit Citrat dargestellten und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel

Von den mit Citrat reduzierten und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurde eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme angefertigt, die in Abbildung 28 dargestellt ist. Die Nanopartikel besitzen eine einheitliche kugelförmige Gestalt und eine einheitliche Größe. Die Größe des Goldkerns beträgt etwa 15 nm.

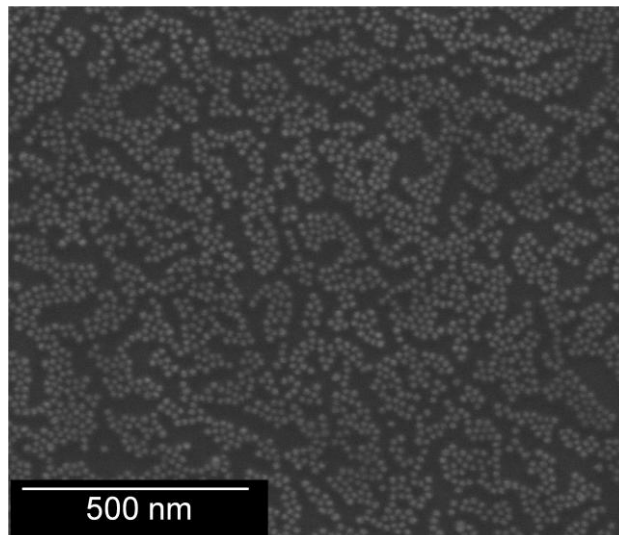


Abbildung 28: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode.

Die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden ebenfalls transmissionselektronenmikroskopisch untersucht. Das Ergebnis ist in Abbildung 29 dargestellt. Die Nanopartikel besitzen eine einheitliche kugelförmige Gestalt und eine relativ einheitliche Größe. Die Größe des Goldkerns beträgt etwa 15 nm. Einige Nanopartikel besitzen eine Größe von etwa 25 nm. Es ist gut zu erkennen, dass die Gold-Nanopartikel eine verzwilligte Struktur besitzen.

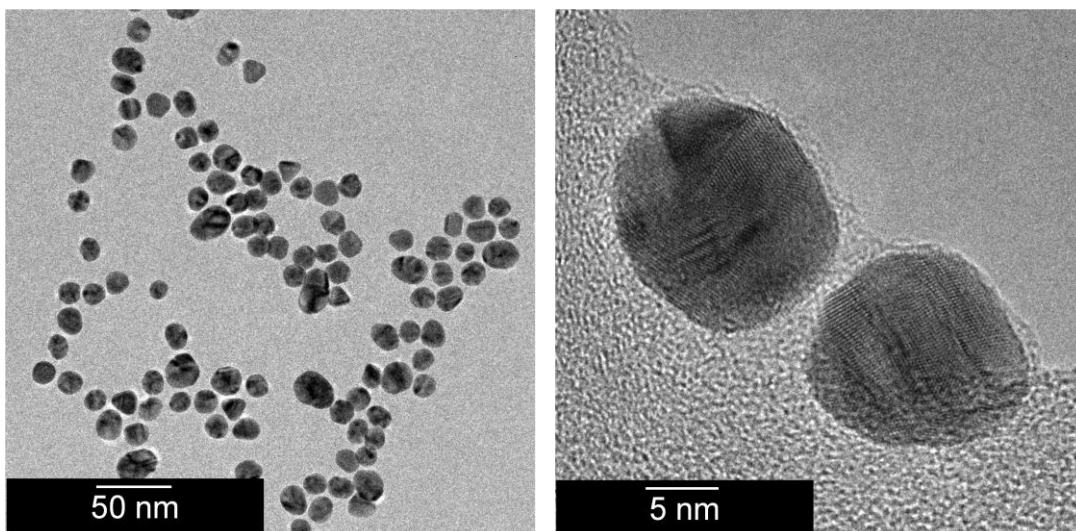


Abbildung 29: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode.

Die Nanopartikel wurden zudem mittels Dynamischer Lichtstreuung charakterisiert. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Abbildung 30 dargestellt.

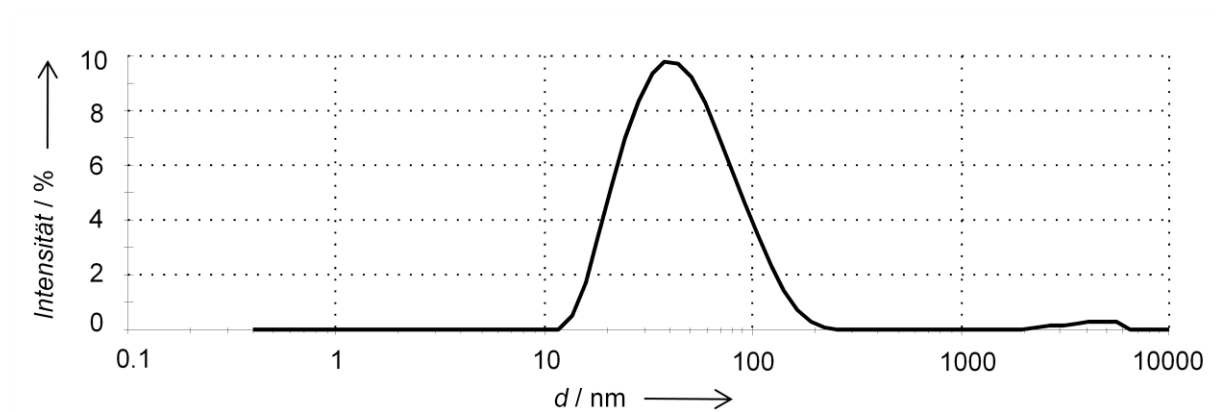


Abbildung 30: Charakterisierung der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Die Gold-Nanopartikel besitzen einen hydrodynamischen Durchmesser von etwa 39 nm und einen PDI von 0,240 nach der Reinigung mittels Ultrazentrifugation. Sie sind somit noch als monodispers anzusehen. Das Zetapotential dieser Partikel beträgt etwa -30 mV, womit sie hinreichend elektrosterisch stabilisiert sind.

Die Nanopartikel wurden ebenfalls mittels Analytischer Scheibenzentrifugation charakterisiert. Der Durchmesser der Partikel liegt bei etwa 11 nm, was in gutem Einklang mit den REM- und TEM-Ergebnissen steht. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 31 dargestellt.

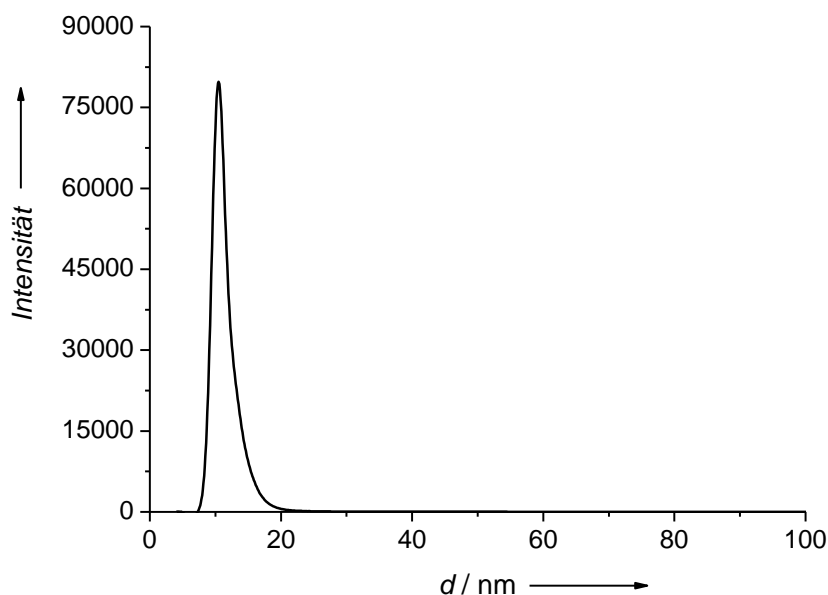


Abbildung 31: Charakterisierung der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden für die Untersuchung der Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln, für die Stabilitätsuntersuchungen in biologischen Medien sowie für zellbiologische Untersuchungen verwendet. Darüber hinaus wurden die Partikel für die Adsorptionsuntersuchungen von Bovinem Serum Albumin (BSA) und die Untersuchung eines Gold- und Silber-Nanopartikel-Gemisches verwendet.

5.1.5. Charakterisierung der mit Citrat dargestellten und durch den Thiol-Liganden TD₂₀-L stabilisierten Gold-Nanopartikel

Zunächst wurden die synthetisierten Produkte DPTS, TD₂₀-a und TD₂₀-L mittels Elementaranalyse oder ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht. Die Ergebnisse werden im Folgenden dargestellt.

Charakterisierung des DPTS mittels Elementaranalyse

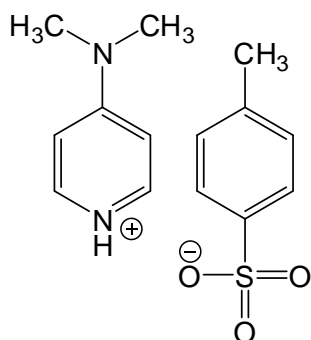


Abbildung 32: Struktur des DPTS.

Tabelle 3: Ergebnis der elementaranalytischen Untersuchung des DPTS.

Element	Theorie / %	Gefunden / %
C	57,14	57,51
H	6,12	6,17
O	16,34	16,29
N	9,52	10,41
S	10,88	10,64

Der elementaranalytischen Untersuchung kann entnommen werden, dass das DPTS in nahezu reiner Form dargestellt worden ist.

Charakterisierung des Disulfids TD₂₀-a durch ¹H-NMR-Untersuchungen

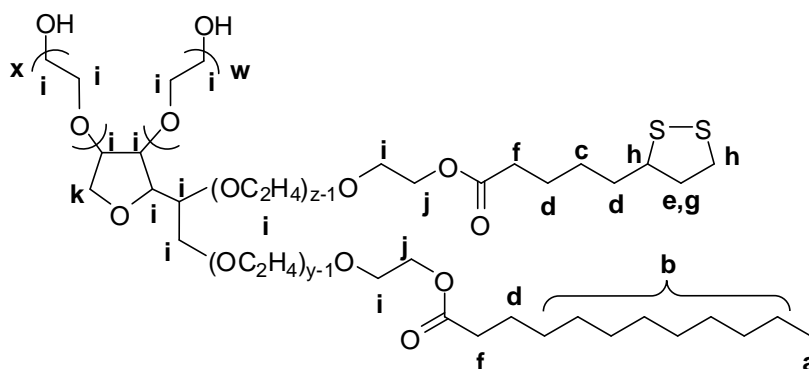


Abbildung 33: Struktur des Disulfids TD₂₀-a.

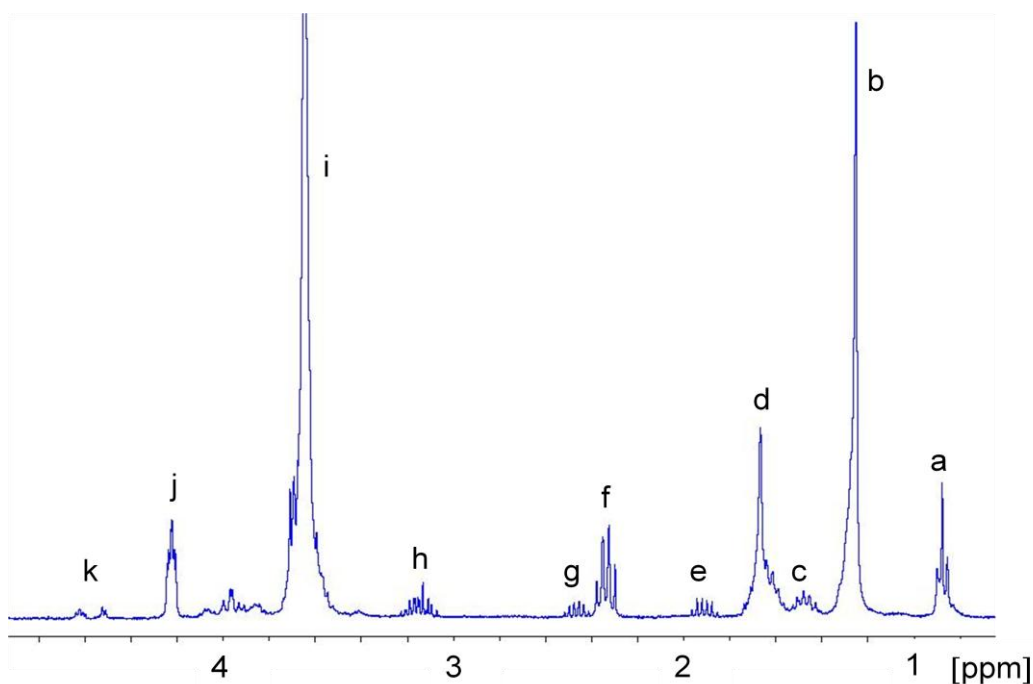


Abbildung 34: ^1H -NMR-Spektrum des Disulfids $\text{TD}_{20}\text{-a}$.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3), δ [ppm] = 0.87 (t, 3H, **a**); 1.24 (m, 16H, **b**); 1.47 (m, 2H, **c**); 1.66 (m, 6H, **d**); 1.90 (m, 1H, **e**); 2.33 (m, 4H, **f**); 2.45 (m, 1H, **g**); 3.14 (m, 3H, **h**); 3.64 (m, 82H, **i**), 4.22 (m, 4H, **j**), 4.56 (m, 2H, **k**).

Das $\text{TD}_{20}\text{-a}$ ist nach der Auswertung des ^1H -NMR-Spektrums in reiner Form dargestellt worden. Die erhaltenen Peaks entsprechen der Literatur und den Erwartungen.^[161]

Charakterisierung des Dithiols $\text{TD}_{20}\text{-L}$ durch ^1H -NMR-Untersuchungen

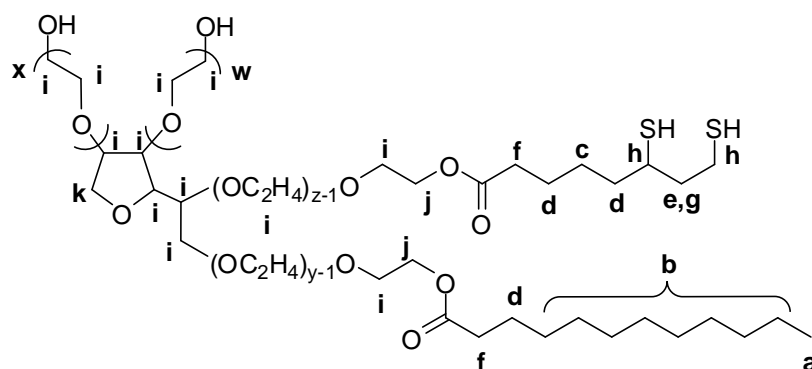


Abbildung 35: Struktur des Dithiols $\text{TD}_{20}\text{-L}$.

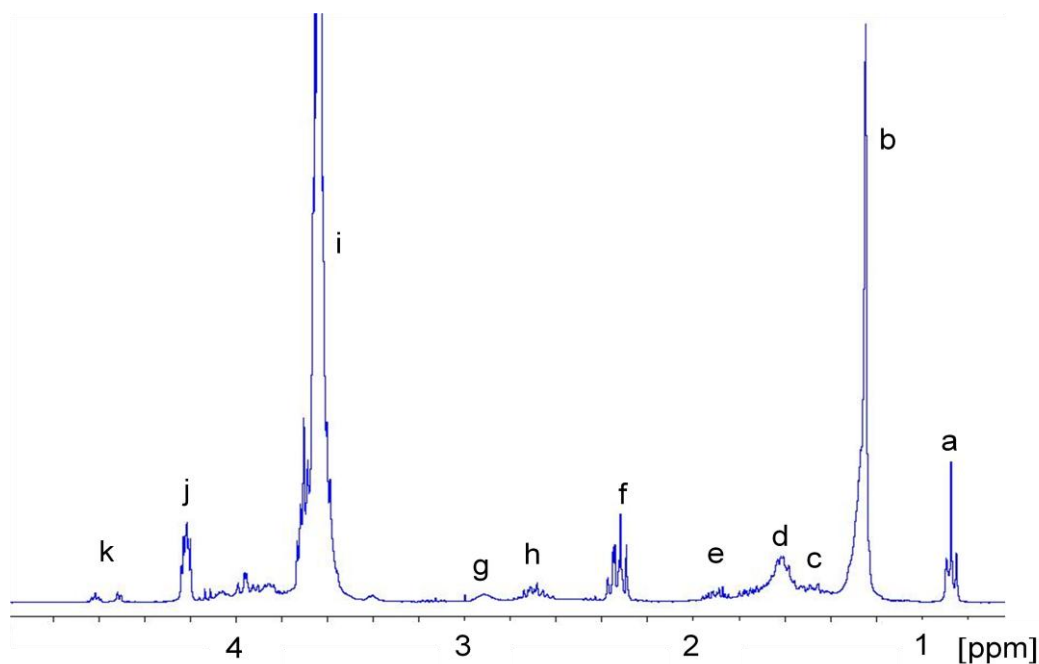


Abbildung 36: ^1H -NMR-Spektrum des Dithiols $\text{TD}_{20}\text{-L}$.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3), δ [ppm] = 0.86 (t, 3H, **a**); 1.24 (m, 16H, **b**); 1.44 (m, 2H, **c**); 1.60 (m, 6H, **d**); 1.88 (m, 1H, **e**); 2.33 (m, 4H, **f**); 2.67 (m, 3H, **h**); 2.91 (m, 1H, **g**); 3.63 (m, 82H, **i**), 4.21 (m, 4H, **j**), 4.55 (m, 2H, **k**).

Das $\text{TD}_{20}\text{-L}$ ist nach der Auswertung des ^1H -NMR-Spektrums in reiner Form dargestellt worden. Die Disulfidbrücke des $\text{TD}_{20}\text{-a}$ wurde durch eine Hydrierung mittels NaBH_4 erfolgreich geöffnet. Das erhaltene Dithiol lässt sich wiederum leichter an die Gold-Oberfläche binden als das Disulfid. Die erhaltenen Peaks entsprechen der Literatur und den Erwartungen.^[161]

Charakterisierung der $\text{TD}_{20}\text{-L}$ -stabilisierten Gold-Nanopartikel

Von den durch die Standard-Citrat-Methode dargestellten und mit dem Thiol-Liganden $\text{TD}_{20}\text{-L}$ stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurde eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme angefertigt, die in Abbildung 37 dargestellt ist. Die Nanopartikel besitzen eine einheitliche kugelförmige Gestalt und eine einheitliche Größe. Die Größe des Goldkerns beträgt etwa 14 nm.

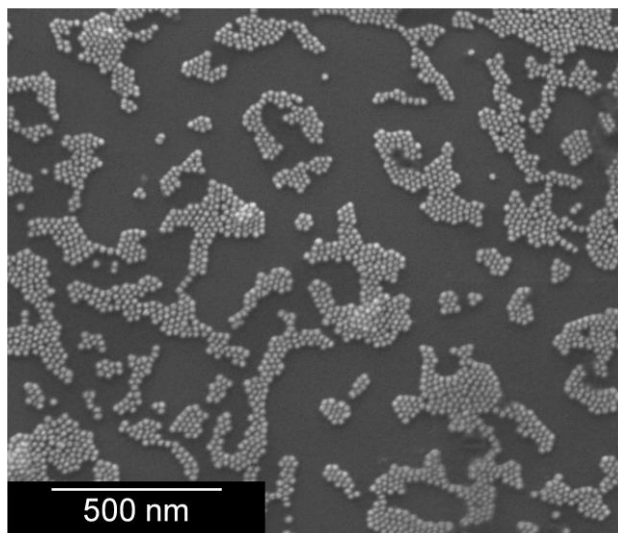


Abbildung 37: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode.

Die Nanopartikel wurden ferner mittels Dynamischer Lichtstreuung charakterisiert. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Abbildung 38 dargestellt.

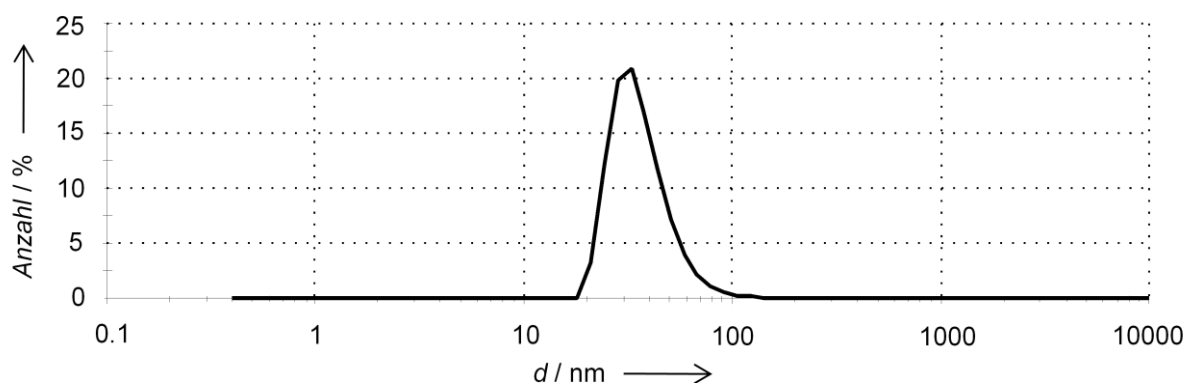


Abbildung 38: Charakterisierung der TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Die Gold-Nanopartikel besitzen einen hydrodynamischen Durchmesser von etwa 37 nm und einen PDI von 0,204 nach der Reinigung mittels Ultrazentrifugation. Sie sind somit noch als monodispers anzusehen. Allerdings ist die relativ breite Größenverteilung der Nanopartikel zu berücksichtigen, die darauf hindeutet, dass einige Partikel vermutlich agglomeriert vorliegen. Das Zetapotential dieser Partikel betrug etwa -50 mV, womit sie ausreichend elektrosterisch stabilisiert sind.

Die Nanopartikel wurden ebenfalls mittels Analytischer Scheibenzentrifugation charakterisiert. Der maximale Durchmesser der Partikel liegt bei etwa 14 nm, was

sehr gut mit dem Ergebnis der Rasterelektronenmikroskopie übereinstimmt. Wiederum ist die Breite der Größenverteilung zu berücksichtigen, die sich von etwa 10 nm bis 50 nm erstreckt. Jedoch sind im Gegensatz zu dem Ergebnis, das durch die Dynamische Lichtstreuung erhalten worden ist, keine Nanopartikel, die größer als 50 nm sind, sichtbar. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 39 dargestellt.

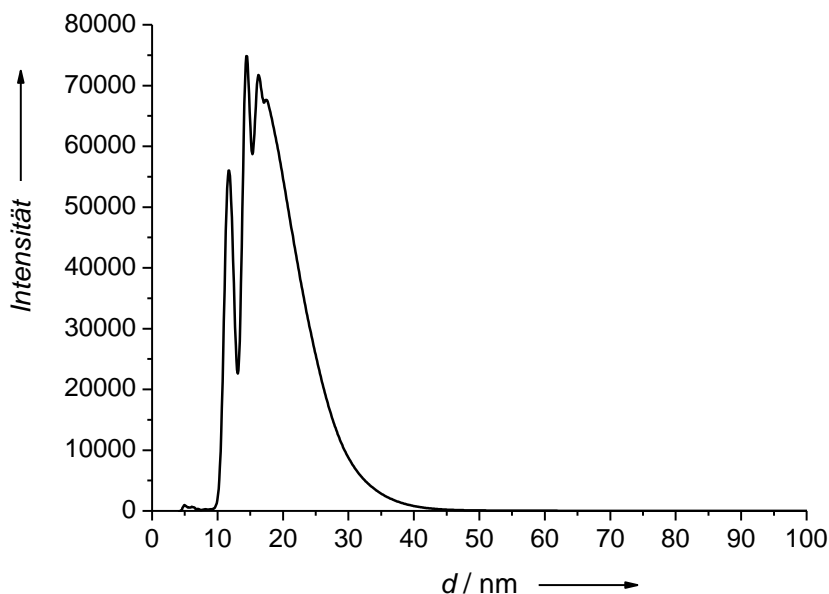


Abbildung 39: Charakterisierung der TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Weiterhin wurden die Nanopartikel mittels UV-Vis-Spektroskopie untersucht, um nachzuweisen, dass der Thiol-Ligand an die Oberfläche der Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel angebunden wurde. Hierzu wurden zwei Spektren aufgenommen, zum einen direkt nach der Citrat-Reduktion und zum anderen nach der Stabilisierung mit dem Liganden TD₂₀-L. Es ist deutlich eine Verschiebung des Absorptionsmaximums zu einer höheren Wellenlänge erkennbar, was ein Hinweis für eine Anbindung des Liganden sein könnte. Die UV-Vis-Spektren sind in Abbildung 40 abgebildet.

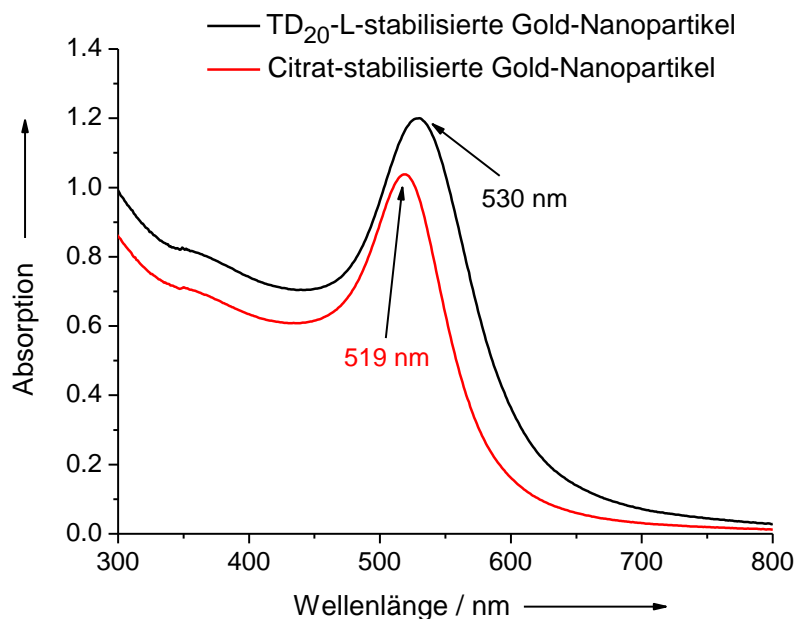


Abbildung 40: Charakterisierung der TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels UV-Vis-Spektroskopie. Abgebildet sind die Resultate vor und nach Zugabe des Thiol-Liganden zu den in Reinstwasser dispergierten Gold-Nanopartikeln.

Desweiteren wurde auch ein IR-Spektrum der mittels Ultrazentrifugation gereinigten TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikel als KBr-Pressling aufgenommen. Das Ergebnis ist in Abbildung 41 dargestellt.

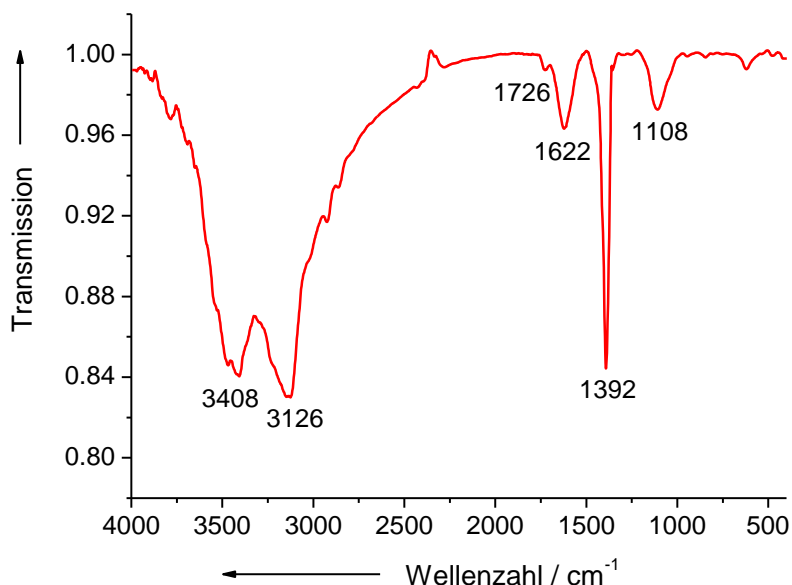


Abbildung 41: Charakterisierung der TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, mittels IR-Spektroskopie.

Durch die sehr hohe Affinität von Thiolen zu Gold- und Silber-Nanopartikeln kann davon ausgegangen werden, dass der Ligand TD₂₀-L durch die Dithiolgruppe auf der Oberfläche der untersuchten Gold-Nanopartikel gebunden wurde und diese stabilisiert. Diese Annahme wird bestärkt, da einige charakteristische Schwingungsbanden in dem Spektrum den entsprechenden Gruppen in dem Molekül zugeordnet werden konnten. Dem IR-Spektrum sind deutlich die von den OH-Gruppen resultierenden Schwingungsbanden zu entnehmen, wobei bei 3126 cm⁻¹ die OH-Valenzschwingung liegt und bei 1392 cm⁻¹ die OH-Deformationsschwingung. Die intramolekularen H-Brücken zwischen den Estergruppen der beiden benachbarten Kohlenwasserstoffketten in dem Molekül verursachen die Schwingungsbande bei 1622 cm⁻¹. Eine schwache CO-Schwingungsbande ist bei 1726 cm⁻¹ erkennbar, welche für gesättigte Ester charakteristisch ist. Bei 1108 cm⁻¹ liegt die C-O-C-Schwingungsbande der Ethergruppe. Die schwache Schwingungsbande, die von den Thiolgruppen ausgeht, ist nicht erkennbar. Diese läge zwischen 2550 und 2600 cm⁻¹. Die Zuordnung der Banden erfolgt zusammengefasst nochmals in der folgenden Tabelle 4.

Tabelle 4: Darstellung der charakteristischen IR-Banden der TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikel, synthetisiert nach der Standard-Citrat-Methode, aufgenommen als KBr-Pressling.

Wellenzahl / cm ⁻¹	Gruppe
3408	OH (KBr)
3126	OH
1726	C=O (gesättigte Ester)
1622	intramolekulare H-Brücken in Estern
1392	OH
1108	C-O-C (Ether)

Die TD₂₀-L-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden in dieser Arbeit nicht weiter verwendet.

5.1.6. Charakterisierung der durch Reduktion mit verminderter Citrat-Konzentration dargestellten und TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel

Von den mit verminderter Citrat-Konzentration dargestellten und TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt, die in Abbildung 42 dargestellt sind. Die Nanopartikel besitzen eine uneinheitliche Gestalt und eine uneinheitliche Größe. Neben kugelförmigen Partikeln sind auch plättchenförmige und stäbchenförmige erkennbar. Die Größe des Goldkerns liegt etwa im Bereich von 72 nm bis 200 nm.

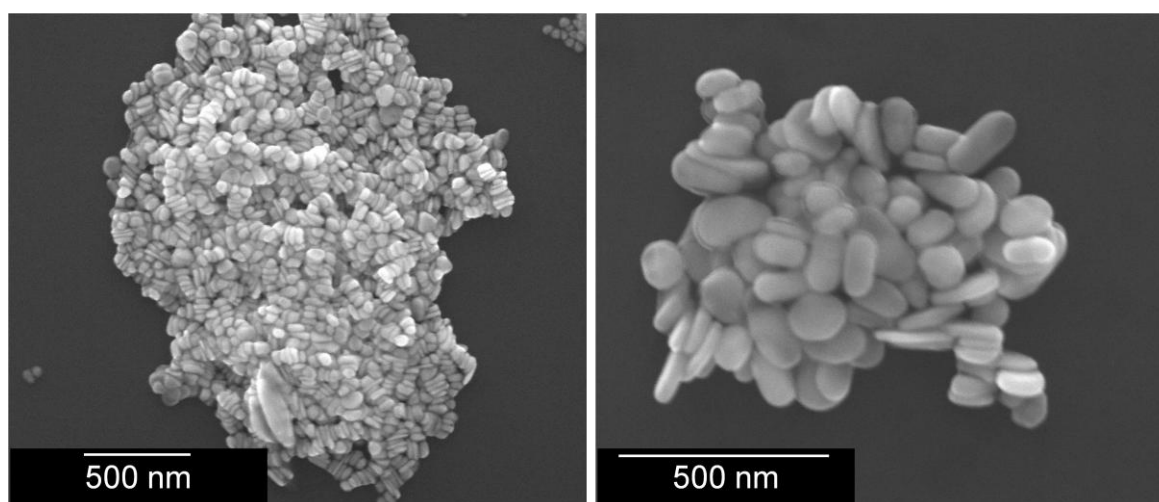


Abbildung 42: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration.

Die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden ebenfalls transmissionselektronenmikroskopisch untersucht. Das Ergebnis ist in Abbildung 43 dargestellt. Die Nanopartikel besitzen keine einheitliche Gestalt und keine einheitliche Größe. Die Größe des Goldkerns liegt etwa zwischen 32 nm und 80 nm. Einige Nanopartikel besitzen eine Stäbchenform. Die Länge der Stäbchen liegt etwa zwischen 50 nm und 108 nm, die Breite etwa zwischen 16 nm und 24 nm.

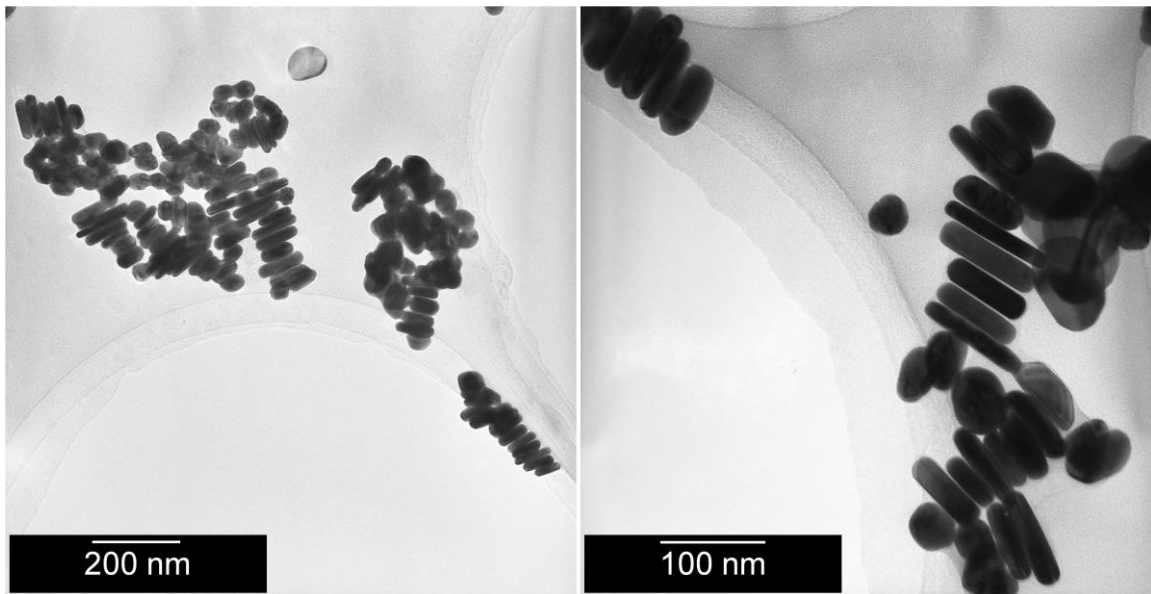


Abbildung 43: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration.

Die Nanopartikel wurden zudem mittels Dynamischer Lichtstreuung charakterisiert. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Abbildung 44 dargestellt.

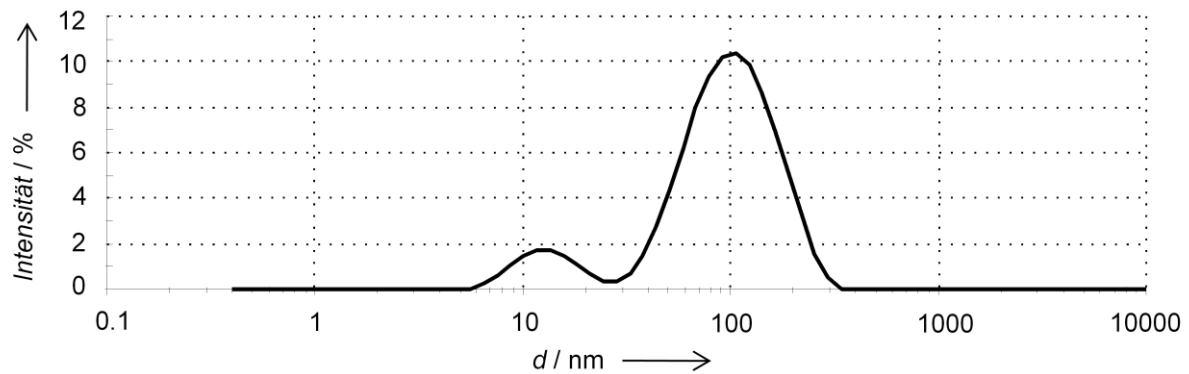


Abbildung 44: Charakterisierung der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Die Gold-Nanopartikel besitzen einen mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 63 nm und einen PDI von 0,456 nach der Reinigung mittels Ultrazentrifugation. Sie sind nicht mehr als monodispers anzusehen. Das Ergebnis wird durch die Abbildungen in REM und TEM bestätigt. Es sind darüber hinaus zwei Maxima bei etwa 14 nm und 110 nm zu erkennen, die den polydispersen Charakter der Nanopartikel verdeutlichen. Das Zetapotential dieser Partikel beträgt etwa -53 mV, womit sie hinreichend elektrostatisch stabilisiert wären.

Die Nanopartikel wurden ebenfalls mittels Analytischer Scheibenzentrifugation charakterisiert. Der maximale Durchmesser der Partikel liegt bei etwa 38 nm, jedoch reicht die Größenverteilung der Nanopartikel von etwa 4 nm bis 120 nm. Das steht in gutem Einklang mit den Ergebnissen, die durch REM, TEM und DLS erhalten wurden. Es handelt sich um ein polydisperses Partikelsystem. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 45 dargestellt.

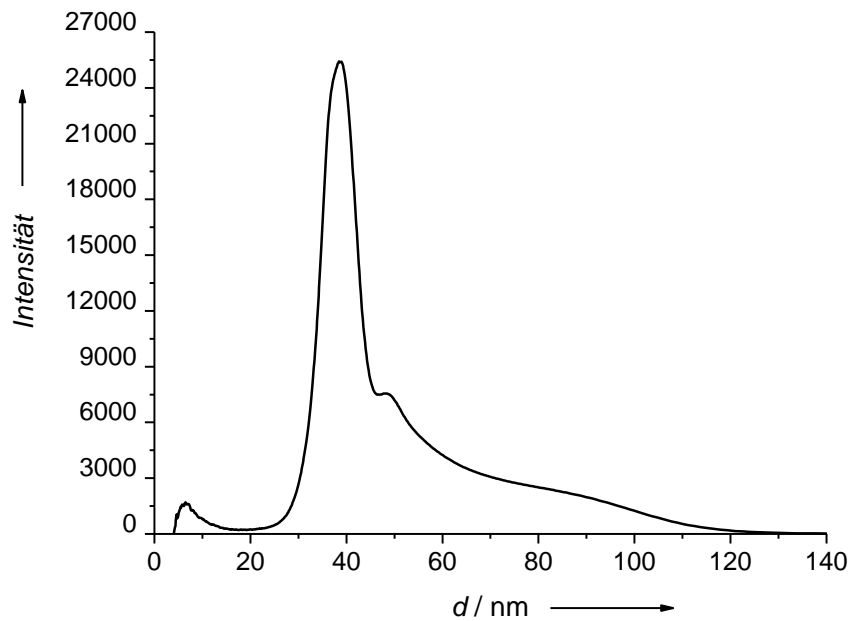


Abbildung 45: Charakterisierung der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, die mit einer verminderten Citrat-Konzentration synthetisiert worden sind, wurden für die Untersuchung der Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln verwendet.

5.1.7. Charakterisierung der durch Reduktion mit verminderter Citrat-Konzentration dargestellten und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel

Von den mit verminderter Citrat-Konzentration dargestellten und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt, die in Abbildung 46 dargestellt sind. Die Nanopartikel besitzen eine uneinheitliche Gestalt und Größe. Neben annähernd kugelförmigen Partikeln sind auch plättchenförmige Partikel erkennbar. Die Größe des Goldkerns liegt etwa in einem Bereich von 37 nm bis 148 nm.

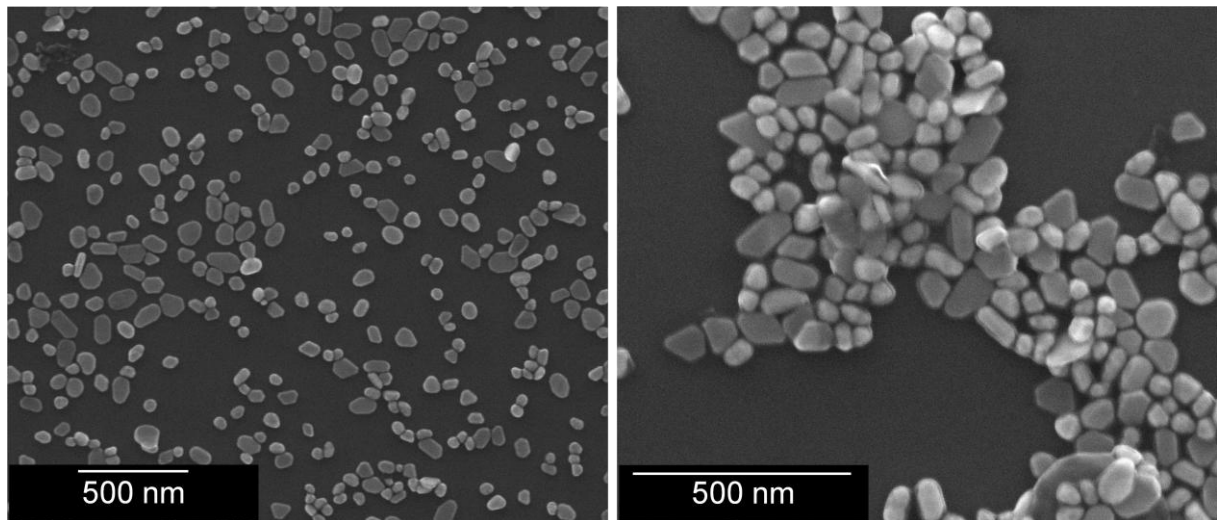


Abbildung 46: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration.

Die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden ebenfalls transmissions-elektronenmikroskopisch untersucht. Das Ergebnis ist in Abbildung 47 dargestellt. Die Nanopartikel besitzen keine einheitliche Gestalt und Größe. Neben annähernd kugelförmigen Partikeln liegen plättchenförmige Partikel und Stäbchen vor. Die Größe des Goldkerns der annähernd kugelförmigen Partikel liegt etwa zwischen 46 nm und 84 nm. Die Plättchen besitzen eine Größe von etwa 46 nm bis 92 nm. Die Länge der Stäbchen liegt etwa zwischen 76 nm und 130 nm, die Breite etwa zwischen 23 nm und 38 nm.

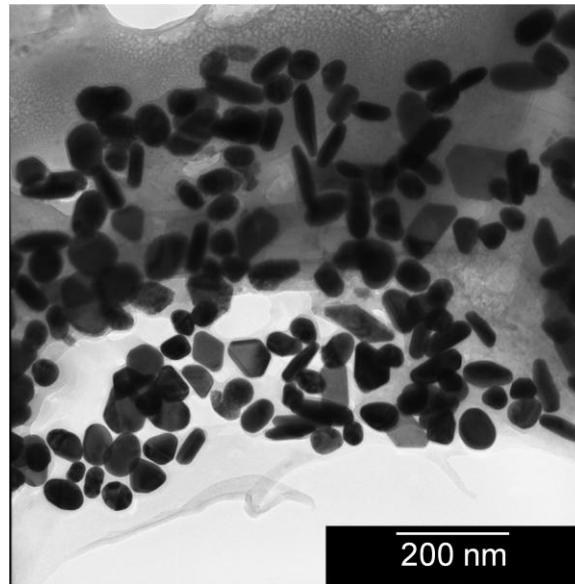


Abbildung 47: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration.

Die Nanopartikel wurden zudem mittels Dynamischer Lichtstreuung charakterisiert. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Abbildung 48 dargestellt.

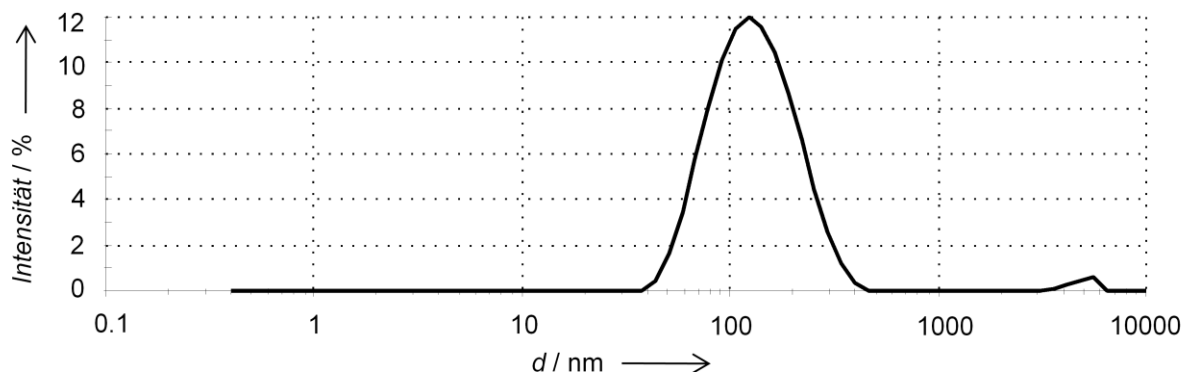


Abbildung 48: Charakterisierung der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, mittels Dynamischer Lichtstreuung.

Die Gold-Nanopartikel besitzen einen mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 110 nm und einen PDI von 0,247 nach der Reinigung mittels Ultrazentrifugation. Sie sind folglich noch als monodispers anzusehen. Allerdings ist die Breite der Verteilungskurve zu beachten, die von etwa 40 nm bis 400 nm reicht. Das Ergebnis wird durch die Abbildungen im REM und TEM bestätigt. Das Zetapotential dieser Partikel beträgt etwa -27 mV, womit sie hinreichend elektrosterisch stabilisiert sind.

Die Nanopartikel wurden ebenfalls mittels Analytischer Scheibenzentrifugation charakterisiert. Der maximale Durchmesser der Partikel liegt bei etwa 44 nm, jedoch reicht die Größenverteilung der Nanopartikel von etwa 10 nm bis 100 nm. Das steht in gutem Einklang mit den Ergebnissen, die durch REM, TEM und DLS erhalten wurden. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 49 dargestellt.

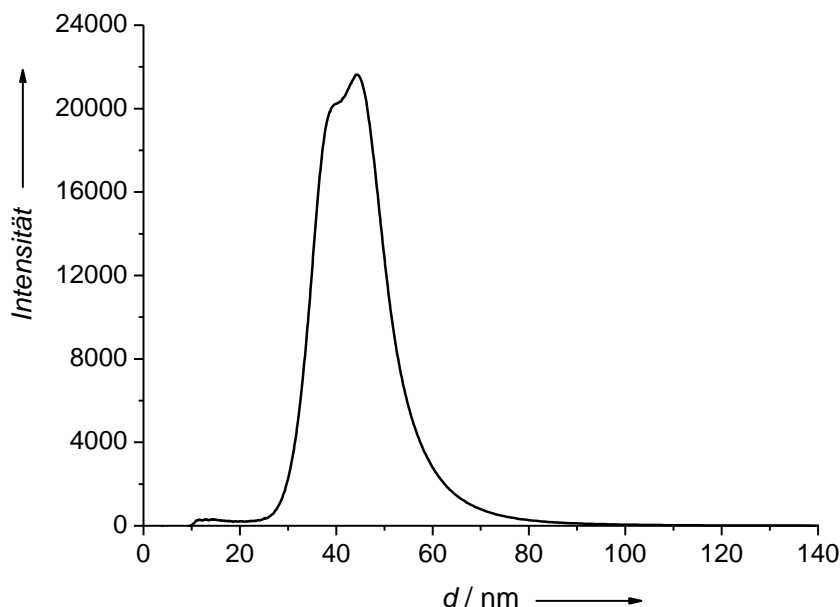


Abbildung 49: Charakterisierung der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, die mit einer verminderten Citrat-Konzentration synthetisiert worden sind, wurden für die Untersuchung der Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln im Verlaufe der Arbeit verwendet.

5.1.8. Charakterisierung der mit einem Gerbsäure/Citrat-Gemisch dargestellten und TPPTS- oder PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel

Von den mit einem Gemisch aus Gerbsäure und Citrat reduzierten und TPPTS- oder PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurden transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt, die in den Abbildungen 50 und 51 dargestellt sind. Eine Charakterisierung mittels Rasterelektronenmikroskopie war auf Grund der zu geringen Größe der Nanopartikel nicht möglich. Die Gold-Nanopartikel besitzen eine recht einheitliche kugelförmige Gestalt und Größe. Die durchschnittliche Größe des

Goldkerns beträgt sowohl für die TPPTS- als auch für die PVP-stabilisierten Nanopartikel etwa 6 nm.

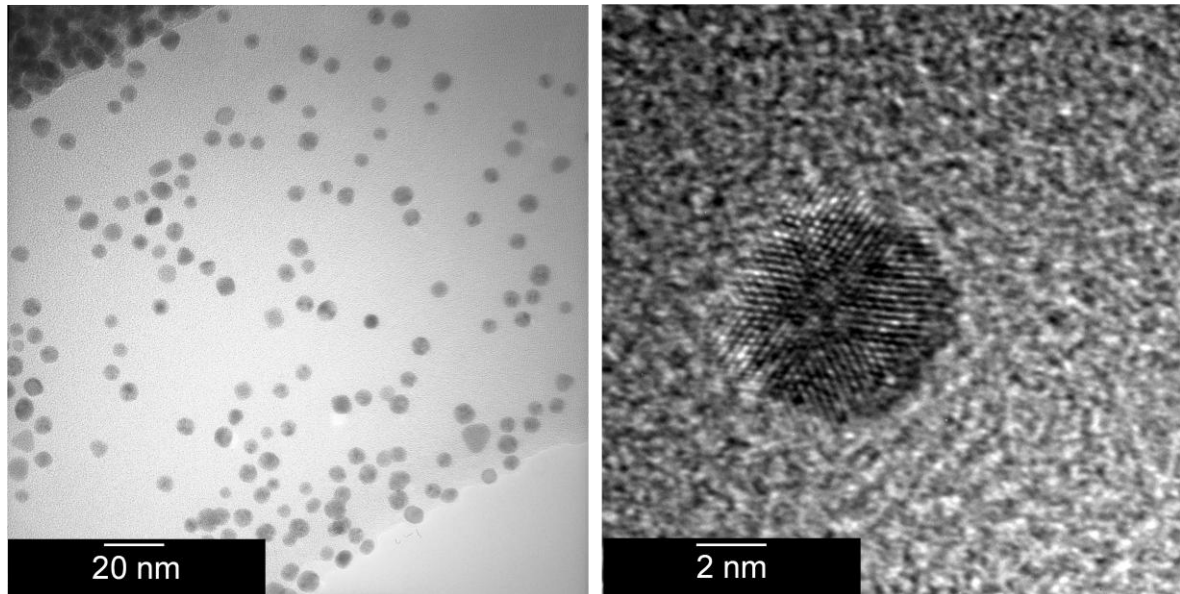


Abbildung 50: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt mit einem Gemisch aus Gerbsäure und Citrat mit einem Massenverhältnis Gerbsäure zu Citrat von 1 zu 4 bei 100 °C.

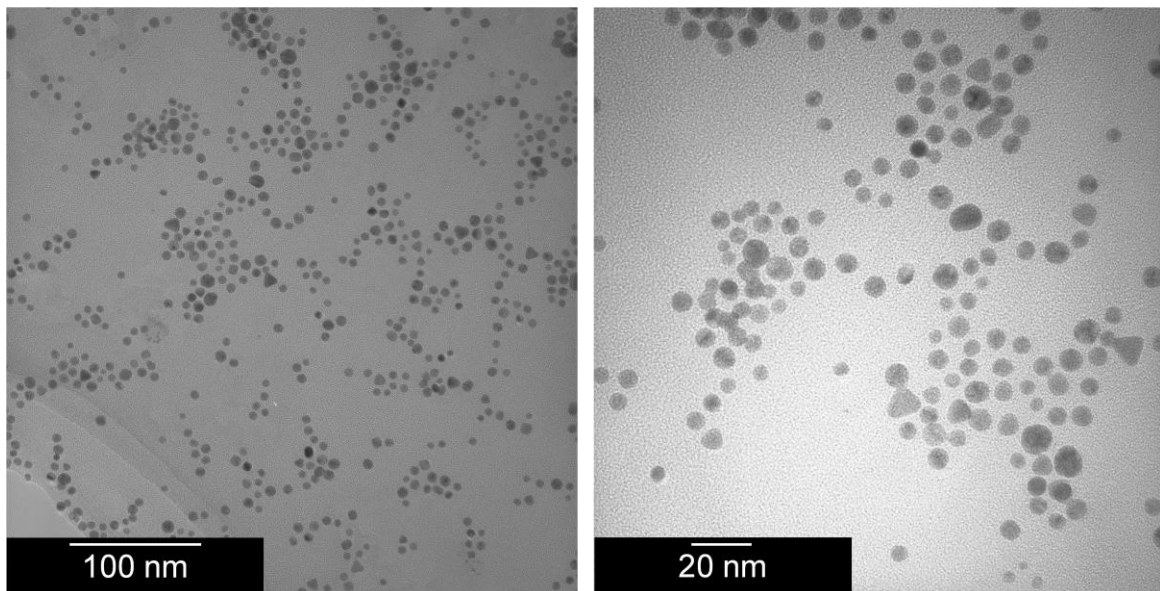


Abbildung 51: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt mit einem Gemisch aus Gerbsäure und Citrat mit einem Massenverhältnis Gerbsäure zu Citrat von 1 zu 4 bei 100 °C.

Die Nanopartikel wurden ebenfalls mittels Analytischer Scheibenzentrifugation charakterisiert. Der maximale Durchmesser der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel liegt bei etwa 6 nm, jedoch reicht die Größenverteilung der Nanopartikel bis etwa 12 nm. Das steht in gutem Einklang mit den Ergebnissen, die mit der Transmissionselektronenmikroskopie erhalten wurden. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 52 dargestellt. Der maximale Durchmesser der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel liegt bei etwa 5 nm bei einer relativ geringen Breite der Größenverteilung. Das deckt sich ebenfalls mit den Ergebnissen, die durch die Transmissionselektronenmikroskopie erhalten wurden. Das Ergebnis der Charakterisierung ist in Abbildung 53 dargestellt.

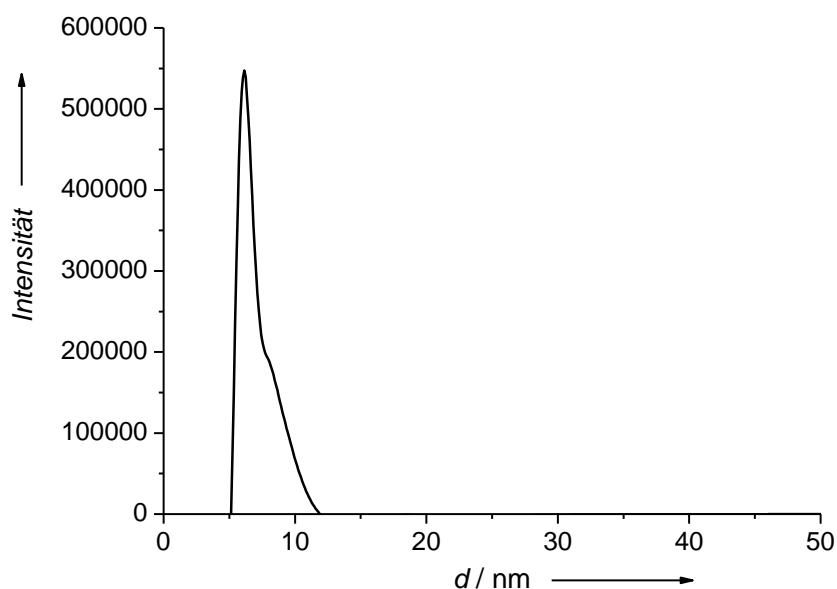


Abbildung 52: Charakterisierung der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt mit einem Gemisch aus Gerbsäure und Citrat mit einem Massenverhältnis Gerbsäure zu Citrat von 1 zu 4 bei 100 °C, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

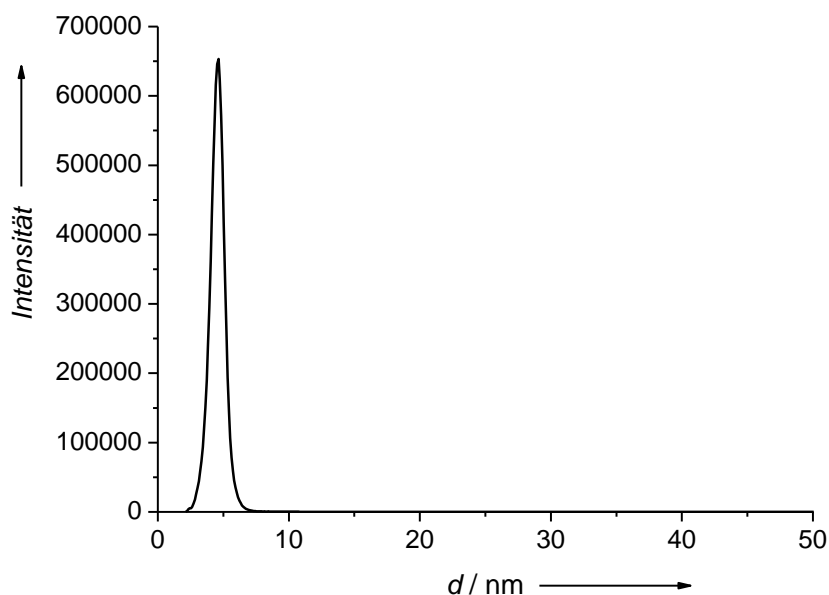


Abbildung 53: Charakterisierung der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, dargestellt mit einem Gemisch aus Gerbsäure und Citrat mit einem Massenverhältnis Gerbsäure zu Citrat von 1 zu 4 bei 100 °C, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Es wurde der Einfluss der Synthesetemperatur zwischen 50 °C und 100 °C auf die Größe von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln untersucht. Dabei wurden die Konzentrationen des Citrats und der Gerbsäure konstant gehalten. Die zu reduzierende Ausgangsverbindung war in allen Fällen die Tetrachlorogoldsäure mit einem Goldgehalt von 5 mg. Die Tabelle 5 fasst die durchgeführten Versuche zusammen.

Tabelle 5: Einfluss der Temperatur auf die Größe von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln.

$T / ^\circ\text{C}$	$m(\text{Gerbsäure})$ / mg	$m(\text{Citrat})$ / mg	$d(\text{DLS}) /$ nm	$d(\text{Scheibenzentrifugation})$ / nm	PDI
50	6,6	30	13,5	13,1	0,12
60	6,6	30	11,7	9,1	0,07
70	6,6	30	10,1	7,9	0,13
80	6,6	30	8,7	7,0	0,22
100	6,6	30	7,5	6,1	0,25

Die folgende Abbildung 54 stellt die Partikelgrößen mittels Dynamischer Lichtstreuung für verschiedene Reaktionstemperaturen dar.

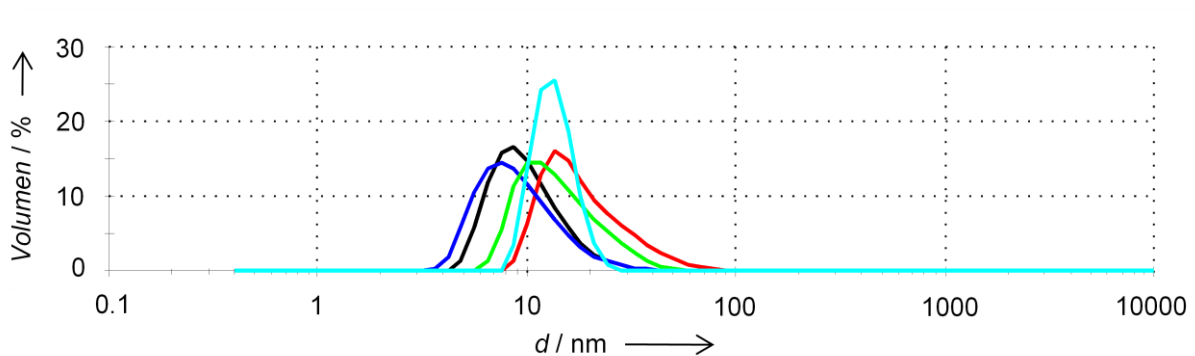


Abbildung 54: Untersuchung der Temperaturabhängigkeit der Größe der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln mittels Dynamischer Lichtstreuung. Dargestellt sind die Volumenverteilungskurven für 50 °C (cyan), 60 °C (rot), 70 °C (grün), 80 °C (schwarz) und 100 °C (blau).

Es ist eine deutliche Abhängigkeit der Partikelgröße von der Reaktionstemperatur erkennbar. In der Abbildung 55 sind die Partikeldurchmesser mittels Dynamischer Lichtstreuung und Analytischer Scheibenzentrifugation in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur dargestellt. Es ist eine Abnahme der Partikelgröße mit steigender Temperatur ersichtlich.

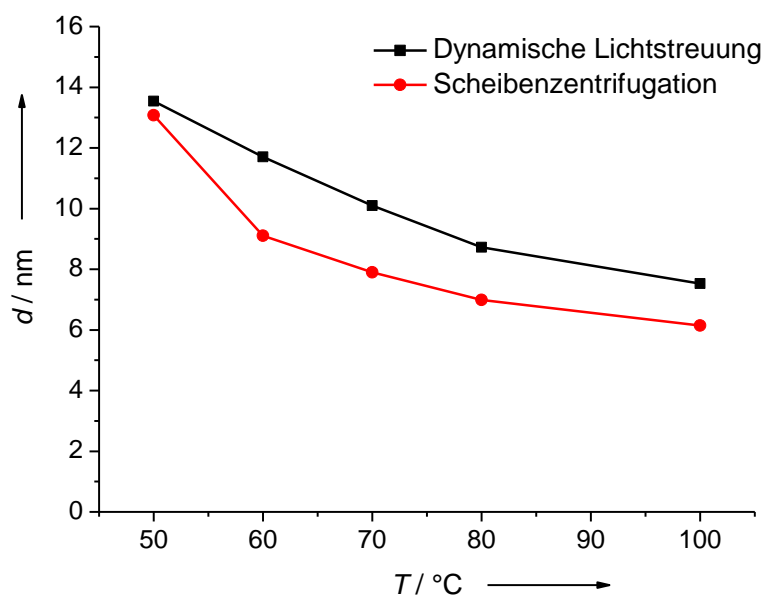


Abbildung 55: Abhängigkeit der Partikelgröße von der Reaktionstemperatur. Die Partikelgrößen wurden sowohl mittels Dynamischer Lichtstreuung als auch mittels Analytischer Scheibenzentrifugation ermittelt.

Der Einfluss der Gerbsäure- und Citrat-Konzentration auf PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel wurde untersucht, wobei die Temperatur mit 100 °C und das Massenverhältnis von Gerbsäure zu Citrat mit 1 zu 4 konstant gehalten wurden. Die folgende Tabelle 6 fasst die durchgeführten Versuche zusammen.

Tabelle 6: Einfluss der Gerbsäure- und Citrat-Konzentration auf die Größe von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln.

$T / ^\circ\text{C}$	$m(\text{Gerbsäure})$ / mg	$m(\text{Citrat})$ / mg	$d(\text{DLS})$ / nm	$d(\text{Scheibenzentrifugation})$ / nm	PDI
100	5,0	20	21,4	8,2	0,20
100	6,6	30	13,5	6,8	0,11
100	10,0	40	10,1	6,1	0,23
100	12,5	50	7,5	5,4	0,06

Die folgende Abbildung stellt die Partikelgrößen, welche durch die Charakterisierung mittels Dynamischer Lichtstreuung erhalten wurden, für verschiedene Gerbsäure- und Citrat-Konzentrationen dar.

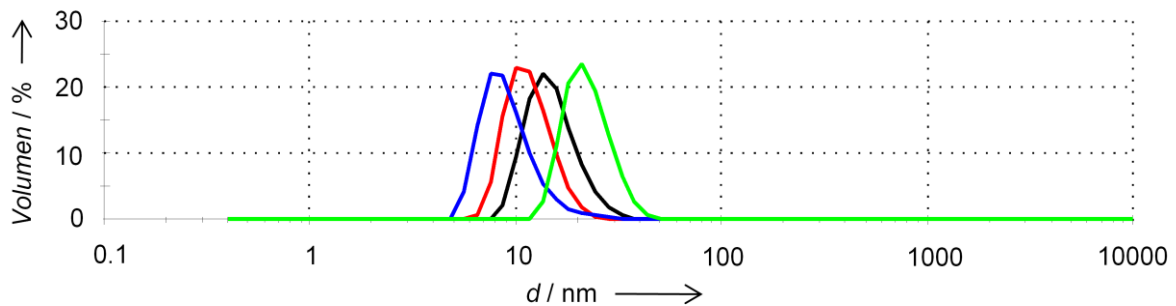


Abbildung 56: Untersuchung der Konzentrationsabhängigkeit von der Größe der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln mittels Dynamischer Lichtstreuung. Dargestellt sind die Volumenverteilungskurven für 12,5 mg Gerbsäure/50 mg Citrat (blau), 10 mg Gerbsäure/40 mg Citrat (rot), 6,6 mg Gerbsäure/30 mg Citrat (schwarz) und 5 mg Gerbsäure/20 mg Citrat (grün).

Es ist erkennbar, dass die Partikelgröße mit steigender Konzentration der Reduktionslösung abnimmt. Ein ähnliches Verhalten wird bereits von *Turkevich et al.* für die Darstellung von Gold-Nanopartikeln mit reinem Natriumcitrat beschrieben.^[93] In Abbildung 57 ist die Abhängigkeit der Partikelgröße von der Citrat-Konzentration dargestellt.

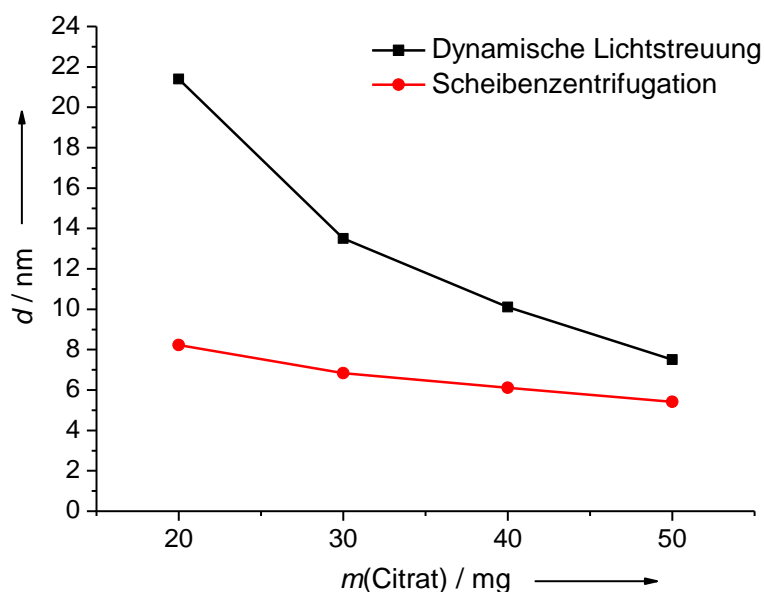


Abbildung 57: Abhängigkeit der Größe der Gold-Nanopartikel von der Citrat-Konzentration. Die Partikelgrößen wurden sowohl mittels Dynamischer Lichtstreuung als auch mittels Analytischer Scheibenzentrifugation ermittelt.

Die großen Abweichungen zwischen den Ergebnissen der analytischen Scheibenzentrifuge und der Dynamischen Lichtstreuung sind vermutlich auf den Stabilisator PVP zurückzuführen. Durch das Polymer verändert sich die Viskosität der Dispersion, wodurch die Partikel in der Dynamischen Lichtstreuung größer erscheinen. Bei der Bestimmung der Partikelgröße mittels Analytischer Scheibenzentrifugation spielt dies eine eher untergeordnete Rolle, da die Probe in einer sehr hohen Verdünnung vorliegt.

Abschließend wurde der Einfluss des Konzentrationsverhältnisses von Gerbsäure zu Citrat untersucht. Dazu wurden Massenverhältnisse von 1:5 sowie 1:3 mit dem üblicherweise verwendeten Verhältnis von 1:4 verglichen. Die Citrat-Konzentration wurde mit 50 mg konstant gehalten. Die Reaktionstemperatur betrug bei den Versuchen konstant 100 °C. Die zu reduzierende Ausgangsverbindung war in allen Fällen die Tetrachlorogoldsäure mit einem Goldgehalt von 5 mg. Zur Stabilisierung der Nanopartikel diente PVP. Die Tabelle 7 fasst die durchgeführten Versuche zusammen.

Tabelle 7: Einfluss der Konzentrationsverhältnisse von Gerbsäure zu Citrat auf die Größe von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln.

$T / ^\circ\text{C}$	$m(\text{Gerbsäure})$ / mg	$m(\text{Citrat})$ / mg	$d(\text{DLS}) /$ nm	$d(\text{Scheibenzentrifugation})$ / nm	PDI
100	10,0	50	11,7	6,0	0,23
100	12,5	50	10,1	5,5	0,06
100	16,6	50	10,1	5,5	0,11

Abbildung 58 stellt die Partikelgrößen, welche durch die Charakterisierung mittels Dynamischer Lichtstreuung erhalten wurden, für verschiedene Verhältnisse von Gerbsäure zu Citrat dar.

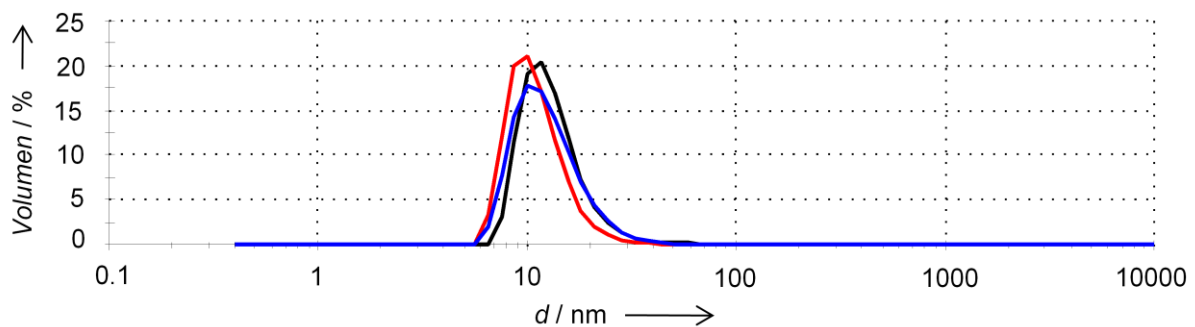


Abbildung 58: Konzentrationsverhältnisabhängigkeit der Größe der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel mittels Dynamischer Lichtstreuung. Dargestellt sind die Volumenverteilungskurven für Verhältnisse von Gerbsäure zu Citrat von 1:3 (rot), 1:4 (blau) und 1:5 (schwarz).

Es sind kaum Unterschiede hinsichtlich der Partikelgröße zu beobachten. Die eingesetzten Mengen der Gerbsäure scheinen keinen signifikanten Einfluss auf die Größe der Partikel auszuüben.

In Abbildung 59 werden die Ergebnisse, die mittels Dynamischer Lichtstreuung und analytischer Scheibenzentrifugation erhalten wurden, nochmals zusammengefasst.

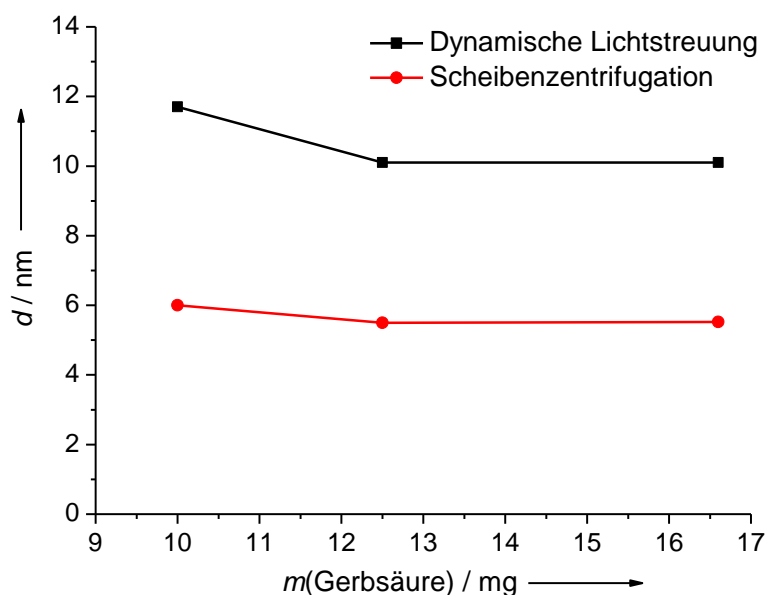


Abbildung 59: Abhängigkeit der Größe der Gold-Nanopartikel von dem Verhältnis von Gerbsäure zu Citrat. Die Partikelgrößen wurden sowohl mittels Dynamischer Lichtstreuung als auch mittels analytischer Scheibenzentrifugation ermittelt.

Das Zetapotential für die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, die mit einem Gerbsäure (12,5 mg) zu Citrat (50 mg) Verhältnis von 1 zu 4, bei einer Temperatur von 100 °C dargestellt wurden, beträgt etwa -45 mV. Für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel betrug es unter analogen Bedingungen etwa -16 mV.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Gold-Nanopartikel die geringste Größe aufwiesen, die bei einer Reaktionstemperatur von 100 °C synthetisiert wurden, nämlich 6 nm bezogen auf den Goldkern. Das Konzentrationsverhältnis von Gerbsäure zu Citrat ist mit 1 zu 4 optimal, wobei 12,5 mg Gerbsäure und 50 mg Citrat einzusetzen sind.

Sowohl die TPPTS- als auch die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, die mit einem Gemisch aus Gerbsäure und Citrat mit einem Massenverhältnis von Gerbsäure zu Citrat von 1 zu 4 bei 100 °C synthetisiert worden sind, wurden nicht weiter verwendet.

5.1.9. Zusammenfassung der Charakterisierung der dargestellten Gold-Nanopartikel

In dieser Arbeit wurde versucht, Gold-Nanopartikel monodispers in unterschiedlichen Größen von 5 nm bis 100 nm, mit unterschiedlichen Formen und mit unterschied-

lichen Funktionalisierungen zu synthetisieren. Durch die Methoden von *Turkevich et al.* und *Schmid et al.* war es möglich, kugelförmige Nanopartikel mit einem Durchmesser des Goldkerns von etwa 13 nm mit unterschiedlichen Funktionalisierungen, wie PVP oder TPPTS, darzustellen. Durch den Zusatz von Gerbsäure zur Synthese nach *Turkevich et al.* war es möglich die Größe des kugelförmigen Goldkerns auf etwa 6 nm zu reduzieren. Auch diese Nanopartikel konnten mit dem Polymer PVP oder nach *Schmid et al.* mit dem hydrophilen Phosphan TPPTS stabilisiert werden. Durch die Reduktion der Citrat-Konzentration waren Nanopartikel mit einer Größe von etwa 100 nm und einer nahezu kugelförmigen Gestalt darstellbar, allerdings mit einem nur wenig monodispersen Charakter. All diese Synthesen haben den Vorteil, in wässriger Lösung zu verlaufen. Zudem fungiert das Citrat gleichzeitig als Reduktionsmittel und Stabilisator.^[93]

Eine weitere sehr prominente Synthesemethode ist der Polyol-Prozess. Das besondere an dieser Methode ist, dass das Reduktionsmittel zugleich auch das Lösungsmittel darstellt. Als stabilisierendes Polymer wird häufig das Polyvinylpyrrolidon (PVP) verwendet. In Abhängigkeit des Stoffmengenverhältnisses von PVP zu Gold ist es möglich, die Form der Gold-Nanopartikel zu variieren. So sind prinzipiell neben Kugeln auch Stäbchen, Würfel oder pyramidale Strukturen, wie z.B. Tetraeder oder Oktaeder, darstellbar. In dieser Arbeit war es möglich mit dem Polyol-Prozess durch Variation der Stoffmengenverhältnisse von PVP zu Gold kugelförmige und dreieckige, bzw. pyramidale Formen zu synthetisieren. *Kim et al.* vermuten, dass das PVP durch unterschiedliche starke Interaktionen mit den verschiedenen Oberflächen der Gold-Nanokristalle, die Wachstumsrate in (100)-Richtung beschleunigt und die Wachstumsrate in (111)-Richtung verlangsamt wird. Das Ergebnis sind Tetraeder oder Ikosaeder. Durch den gezielten Einsatz von Silberionen kann die Wachstumsrate in (100)-Richtung verlangsamt werden und die Wachstumsrate in (111)-Richtung beschleunigt werden. Das Ergebnis sind Nanowürfel.^[28] Ein Problem bei der Synthese nach dem Polyol-Prozess war die Reproduzierbarkeit der Gold-Nanopartikel. Unter identischen Bedingungen variierten die erhaltenen Nanopartikel hinsichtlich ihrer Größe. Zudem sollten entsprechend der Literatur bei einem Stoffmengenverhältnis von PVP zu Gold von 8,6 zu 1 mindestens 90 % der Nanopartikel eine Ikosaederstruktur aufweisen.^[28] Es wurden hingegen kugelförmige Nanopartikel erhalten. Vielfach wird in der Literatur der Einfluss von Verunreinigungen der verwendeten Chemikalien diskutiert.^[163] Eine Verunreinigung des PVP

hätte zur Folge, dass bestimmte Flächen in dem Kristall nicht mehr bevorzugt wachsen würden. Das Resultat wäre eine veränderte Form der Nanopartikel. Das wird für die Synthese von Gold-Nanostäbchen beispielsweise von *Smith und Korgel* beschrieben, die dasselbe Tensid (CTAB) von unterschiedlichen Herstellern verwendeten.^[164] Eine ähnliche Beobachtung wird für die Synthese von Silber-Nanowürfeln von *Kittler et al.* beschrieben.^[165] Häufig hat auch die Art des Lösungsmittels einen Einfluss auf die Form der Nanopartikel.^[166] Einen Einfluss auf die Form der Nanopartikel kann auch die Gold-Ausgangsverbindung haben, wenn in ihr schon kleinere Goldcluster enthalten sind. Die Cluster sind in der Lage die Reaktionskinetik und damit den Reaktionspfad zu beeinflussen.^[49] Da die Nanopartikel darüber hinaus schwierig zu reinigen waren, ohne dabei ihre Ausbeute und ihren monodispersen Charakter zu verlieren, wurde der Polyol-Prozess im weiteren Verlauf der Arbeit nicht weiter verfolgt. Die Gold-Nanopartikel, die sehr monodispers und äußerst reproduzierbar in einer hohen Ausbeute dargestellt werden konnten, waren die nach der Methode von *Turkevich et al.* dargestellten Citrat-stabilisierten Partikel. Diese wurden im Anschluss an die Synthese mit dem nicht toxischen PVP stabilisiert. Diese Synthese erlaubte den Einsatz der Gold-Nanopartikel für zell-biologische Untersuchungen. Tabelle 8 fasst die Eigenschaften der durch unterschiedliche Methoden dargestellten Gold-Nanopartikel zusammen.

Tabelle 8: Zusammenfassung der unterschiedlichen Gold-Nanopartikel, die nach verschiedenen Synthesemethoden, in unterschiedlichen Größen, in unterschiedlichen Formen und mit unterschiedlichen Oberflächenladungen dargestellt wurden.

Methode	Größe des Gold-Kerns / nm	Form	Stabilisierung	Zetapotential / mV
Polyol-Prozess	30 bis 105	Kugel	PVP	-16 bis -24
	100 bis 120	Tetraeder	PVP	-14
Gerbsäure-Methode	6	Kugel	TPPTS	-45
	6	Kugel	PVP	-16
Standard-Citrat-Methode	13	Kugel	Citrat	-32
	13	Kugel	TPPTS	-29
	15	Kugel	PVP	-30
	14	Kugel	TD ₂₀ -L	-50
Modifizierte	72 bis 200	Kugel	TPPTS	-53
Standard-Citrat-Methode	24 (Breite)	Stäbchen	TPPTS	-53
	108 (Länge)			
	37 bis 148	Kugel	PVP	-27

5.2. Untersuchung der Löslichkeit an Gold-Nanopartikeln

Gold-Nanopartikel besitzen ein großes Potential für zukünftige Anwendungen in der Krebsdiagnostik oder Krebstherapie. Während die Löslichkeit der makroskopischen Volumenphase des Goldes unter verschiedenen Bedingungen in der Vergangenheit gut untersucht worden ist, gibt es zu Gold-Nanopartikeln gegenwärtig noch keine abgeschlossenen Untersuchungen. Diese sind aber sinnvoll, da nicht auszuschließen ist, dass sich das nanopartikuläre Gold anders verhalten wird als Gold in der makroskopischen Volumenphase. Der Grund liegt in einer vergrößerten spezifischen Oberfläche der Nanopartikel gegenüber der Volumenphase. Gold gilt elektrochemisch als das edelste Metall, so dass eine Auflösung nur unter sehr extremen Bedingungen möglich ist, z.B. in Königswasser zur Tetrachlorogoldsäure (+III)^[167] oder mittels Kaliumcyanid in wässriger, sauerstoffreicher Lösung zum Kaliumdicyanoaurat (+I).^[168] Ebenso werden Thiosulfatlösungen in der Literatur als Ersatz für Cyanidlösungen diskutiert, um Gold zu lösen.^[169] Gold ist auch in salzsaurer Lösung unter Wechselstrombedingungen zu oxidieren.^[170] Ferner findet sich in der Literatur ein Weg mittels Chlorid-^[171] und Hypochlorit-Lösungen^[172] das Gold zu oxidieren. Auch sind Zellen, wie z.B. Makrophagen in der Lage, aus einer metallischen Goldoberfläche Gold-Ionen freizusetzen.^[173] In Reinstwasser beträgt die theoretisch ermittelte Gleichgewichtskonzentration an Au^{3+} -Ionen bei einem neutralen pH-Wert und einem Sauerstoffpartialdruck von 1 atm etwa $4,55 \cdot 10^{-40} \text{ mol L}^{-1}$.^[174] Eine Goldlöslichkeit liegt also praktisch nicht vor. Als Grundlage zur Berechnung der Gleichgewichtskonzentration diene die Nernst-Gleichung, die allerdings nur für Elemente in makroskopischer Phase gilt. Aus diesem Grund wurde die Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln untersucht. Es wurden kugelförmige Nanopartikel mit einem Durchmesser des Goldkerns zwischen 13 nm und 100 nm synthetisiert, charakterisiert und anschließend zu untersuchen versucht. Als Stabilisatoren kamen TPPTS und PVP zum Einsatz. Die Konzentration der Gold-Nanopartikel wurde mittels Atomabsorptionsspektroskopie (AAS), die der Gold-Ionen mittels induktiv gekoppelten Plasmas mit massenspektrometrischer Detektion (ICP-MS) bestimmt. Im Verlaufe der Untersuchung waren Modifikationen der Trennmethode von Gold-Nanopartikeln und Gold-Ionen notwendig. Die Auflösung von Gold-Nanopartikeln wurde mit drei unterschiedlichen Ansätzen untersucht. Zunächst kam eine Dialyse mittels Dialyseschlauch zum Einsatz, wobei zwei unterschiedliche Membranmaterialien verwendet wurden. Anschließend wurde eine Kombination aus

Ultrazentrifugation und Verwendung eines Agarose-Gels zur quantitativen Trennung der Gold-Ionen von den Nanopartikeln verwendet. Zuletzt kam ein kommerziell erhältlicher Nanofilter zum Einsatz. Als Kontrollexperiment diente die Untersuchung der Auflösung eines Gold-Barrens in Reinstwasser.

5.2.1. Löslichkeitsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln mittels Dialysemembran

Die Untersuchung der Auflösung wurde zunächst mittels Dialyse durchgeführt. Hierbei wurde sowohl ein Dialyseschlauch aus einer regenerierten Cellulose als auch aus einem Celluloseester verwendet. Der Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose (MWCO = 12000-14000 D) besaß eine maximale Durchlässigkeit für die Nanopartikel von etwa 2 nm, der Schlauch aus dem Celluloseester (MWCO = 100000 D) eine von etwa 10 nm. Die maximale Durchlässigkeit ergibt sich aus einer Umrechnungstabelle der Firma Carl Roth. Dieser Tabelle kann bei bekanntem MWCO (engl. *molecular weight cut off*) die entsprechende Porenweite der Membran entnommen werden. In den Dialyseschlauch wurden 3 bis 5 mL der in Reinstwasser dispergierten Gold-Nanopartikel mit bekannter Gold-Konzentration eingebracht. Der Dialyseschlauch wurde an beiden Enden mit einer Kunststoffklammer verschlossen und in ein 500 mL Becherglas mit Reinstwasser gegeben und dialysiert. Die Bechergläser wurden mit Parafilm verschlossen, und es wurde in regelmäßigen Abständen eine Probe (10 mL) des Dialysats entnommen. Diese wurden bis zur Bestimmung der Gold-Konzentration in einem verschlossenen Greiner-Röhrchen im tiefgefrorenen Zustand bei -20 °C gelagert, um mögliche Adsorptions- und Reduktionseffekte der Gold-Ionen durch das Material des Greiner-Röhrchens zu verhindern. Der Gold-Gehalt wurde mittels ICP-MS bestimmt. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 60, der praktische in Abbildung 61 dargestellt.

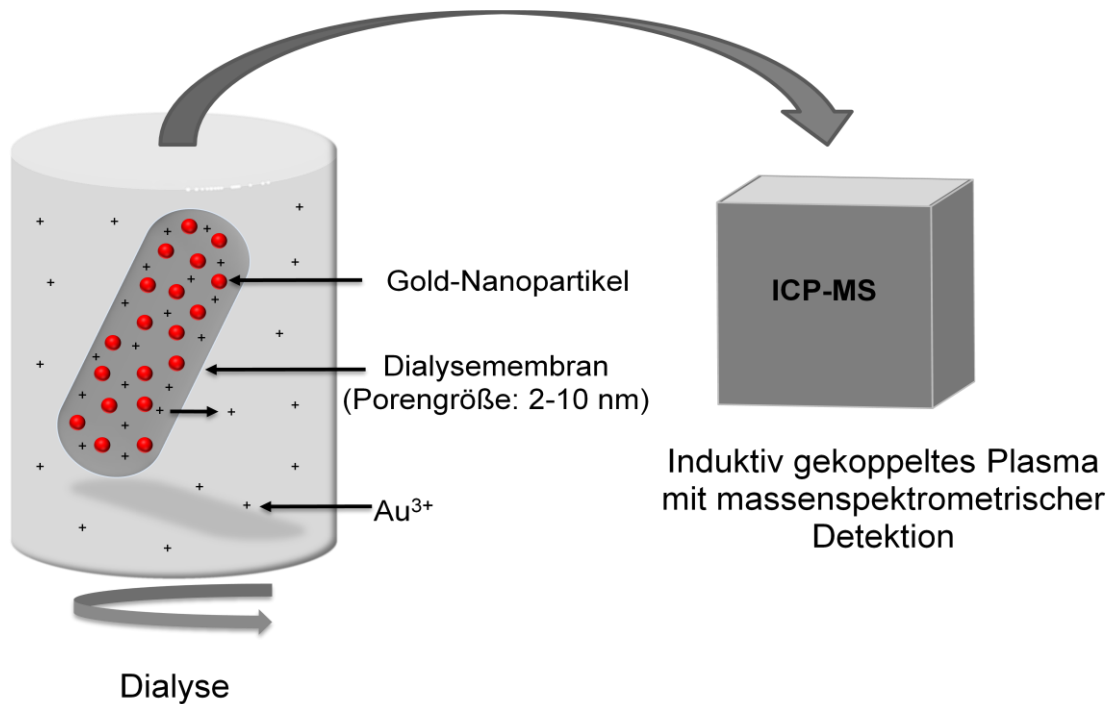


Abbildung 60: Schematische Darstellung der Löslichkeitsuntersuchung an Gold-Nanopartikeln mittels Dialyse.

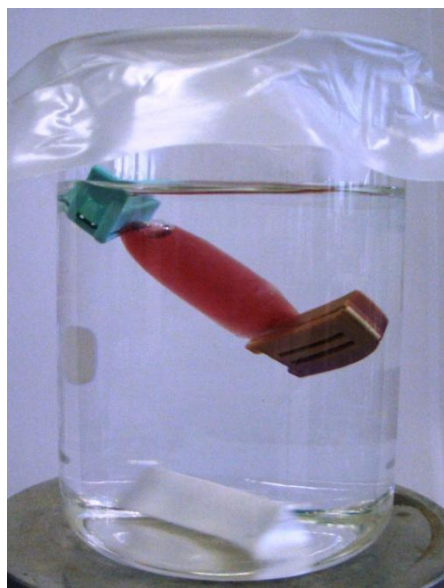


Abbildung 61: Darstellung der Löslichkeitsuntersuchung an Gold-Nanopartikeln mittels Dialyse.

5.2.2. Diffusion von Gold-Ionen durch die Dialysemembran

Zunächst musste die Diffusionsgeschwindigkeit von Gold-Ionen simuliert werden. Es musste ausgeschlossen werden, dass der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Diffusion der Gold-Ionen aus dem Dialyseschlauch darstellt. Hierzu wurde die

Tetrachlorogoldsäure (HAuCl_4) in wässriger Lösung in den Dialyseschlauch eingebracht und dem Dialysat zu bestimmten Zeiten eine Probe entnommen, um die Gold-Konzentration mittels ICP-MS zu bestimmen.

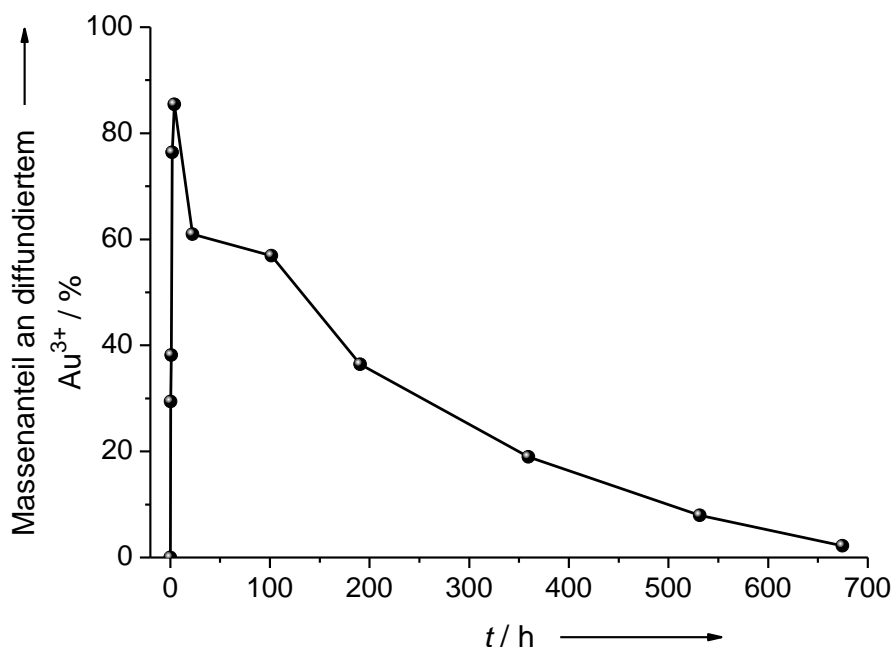


Abbildung 62: Diffusion von Gold-Ionen (als HAuCl_4) durch einen Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose in Reinstwasser bei 25 °C.

Es ist deutlich ein schneller Anstieg des Massenanteils des Goldes außerhalb des Dialyseschlauchs im Dialysat erkennbar. Das bedeutet für die Versuche mit den Gold-Nanopartikeln, dass der geschwindigkeitsbestimmende Schritt nicht die Diffusion der gebildeten Gold-Ionen ist, sondern die Auflösung der Gold-Nanopartikel. Andererseits ist deutlich erkennbar, dass der Wert der eingesetzten Gold-Masse nicht erreicht wird. Der Maximalwert liegt nach 4 h bei etwa 85 % der eingesetzten Masse an Gold-Ionen. Im Anschluss daran sinkt der Massenanteil im Dialysat kontinuierlich, bis nach etwa 670 h nur noch 2 % der eingesetzten Gold-Masse im Dialysat wiederzufinden sind. Die folgende Abbildung zeigt die verwendete Dialysemembran zu Beginn des Experiments und nach 28 Tagen (670 h).

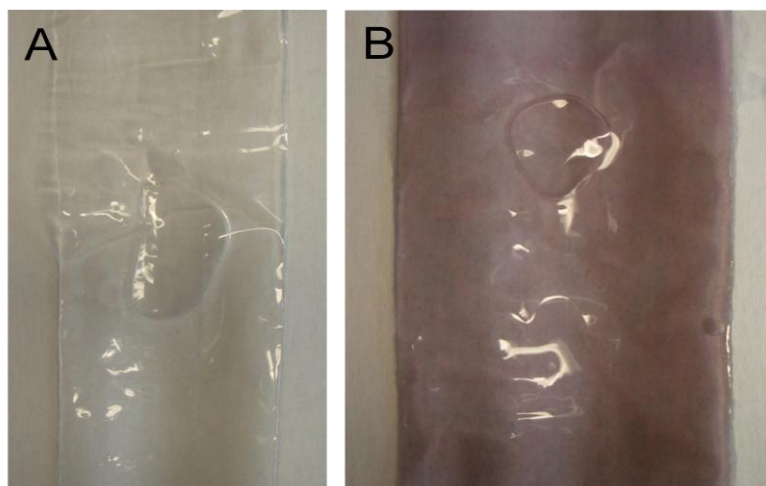


Abbildung 63: Dialyseschlauch aus einer regenerierten Cellulose zu Beginn (A) und nach 28 Tagen (B). In dem Dialyseschlauch befand sich HAuCl_4 , um die Diffusionsgeschwindigkeit von Gold-Ionen zu bestimmen.

Es ist gut zu erkennen, dass die Dialysemembran innerhalb von 28 Tagen die Farbe geändert hat. Zu Beginn des Experiments war die Membran transparent, nach 28 Tagen hatte sie eine dunkle Farbe angenommen. Das bestätigt die analytischen Daten, die eine Abnahme des Gold-Massenanteils im Dialysat mit zunehmender Zeit ergeben. Der Grund liegt wohl in einer Reduktion des Goldkomplexes durch das Material der Membran. Die Membran besteht aus einer regenerierten Cellulose, die wiederum aus β -1,4-glykosidisch verbundenen Glukoseeinheiten aufgebaut ist. Glukose wiederum ist prinzipiell in der Lage, Gold zu reduzieren. Um den Einfluss verschiedener Materialien auf den Massenanteil der gelösten Gold-Ionen zu untersuchen, wurde folgendes Experiment durchgeführt. Es wurden zwei Gefäßwerkstoffe, Glas und *Low Density* Polyethylen (LD-PE) untersucht. Das Glas wurde zudem mit und ohne Magnetrührstab sowie mit und ohne Dialysemembran untersucht. Der Goldgehalt war in allen vier Gefäßen zu Beginn des Experiments gleich hoch. Das Ergebnis ist in der folgenden Abbildung dargestellt.

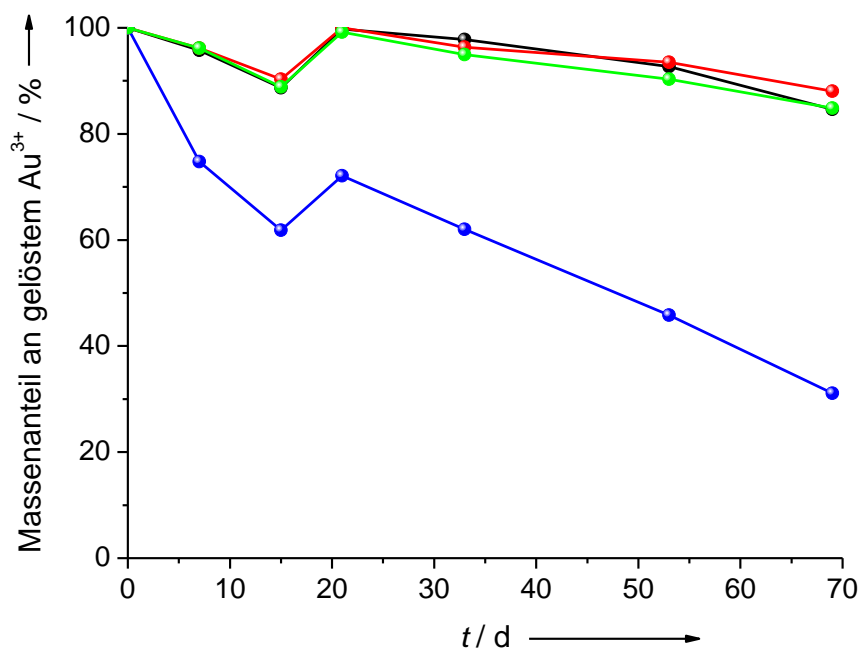


Abbildung 64: Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Materialien auf den Massenanteil der gelösten Gold-Ionen. Es wurden Gefäße aus Glas ohne PTFE-Magnetrührstab und ohne Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose (schwarz), aus Glas mit PTFE-Magnetrührstab und ohne Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose (rot), aus Glas mit PTFE-Magnetrührstab und mit Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose (blau) sowie aus *Low Density Polyethylen* (LD-PE) ohne PTFE-Magnetrührstab und ohne Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose (grün) untersucht.

Es ist deutlich zu erkennen, dass der größte Einfluss von dem Dialyseschlauch ausgeht. In diesem Gefäß sinkt der Anfangswert des Massenanteils des gelösten Goldes nach 69 Tagen auf 31 % ab. In den übrigen Gefäßen liegt der Wert zwischen 84 und 88 %. Auch hier wird der Einfluss des Materials des Magnetrührstabs (PTFE, Polytetrafluorethylen) und der Gefäße (Glas, LD-PE) deutlich. Für die nachfolgenden Versuche wurde das Material des Dialyseschlauches variiert. Das war notwendig, da die Membran aus der regenerierten Cellulose eine deutliche Interaktion mit den Gold-Ionen zeigte (Abbildungen 62 und 63). Ohne einen Wechsel des Membran-Materials wäre eine Untersuchung der Löslichkeit der Gold-Nanopartikel mittels Dialyse nicht möglich. Anstelle der regenerierten Cellulose wurde ein Celluloseester verwendet, dessen maximale Durchlässigkeit bei 10 nm lag. Zunächst musste

wiederum die Diffusionsgeschwindigkeit von Gold-Ionen bestimmt werden. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Abbildung 65 dargestellt.

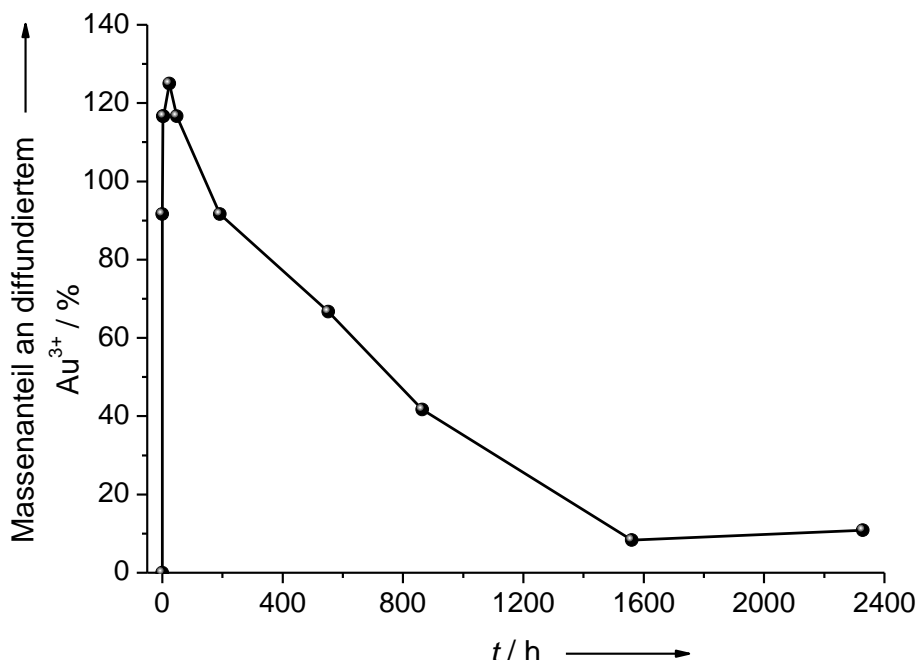


Abbildung 65: Diffusion von Gold-Ionen (als HAuCl_4) durch einen Dialyseschlauch aus einem Celluloseester in Reinstwasser bei 25 °C.

Es ist wiederum deutlich ein schneller Anstieg des Massenanteils des Goldes außerhalb des Dialyseschlauches im Dialysat erkennbar. Das bedeutet für die Versuche mit den Gold-Nanopartikeln, dass der geschwindigkeitsbestimmende Schritt nicht die Diffusion der gebildeten Gold-Ionen ist, sondern die Auflösung der Gold-Nanopartikel. Zudem ist deutlich erkennbar, dass der Wert der eingesetzten Gold-Masse überstiegen wird, wofür es keine Erklärung gibt. Nach 30 min ist schon ein Massenanteil von 92 % nach außen diffundiert. Im Anschluss daran sinkt der Massenanteil im Dialysat kontinuierlich, bis nach etwa 2300 h nur noch 11 % der eingesetzten Gold-Masse im Dialysat wiederzufinden sind. Die Celluloseester-Membran scheint besser geeignet zu sein, um die Auflösung der Gold-Nanopartikel zu untersuchen. Nach 670 h waren mit der regenerierten Cellulose nur noch 2 % der diffundierten Gold-Masse im Dialysat detektierbar. Mit dem Celluloseester waren es nach 864 h immerhin noch 42 %. Optimal geeignet ist hingegen weder die Membran aus regenerierter Cellulose noch aus dem Celluloseester.

5.2.3. Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln

Es wurde die Auflösung von Gold-Nanopartikeln in Reinstwasser bei 25 °C mit einem Dialyseschlauch aus einem Celluloseester untersucht. Hierfür wurden TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 23 nm und 110 nm verwendet. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den Abbildungen 66 und 67 dargestellt.

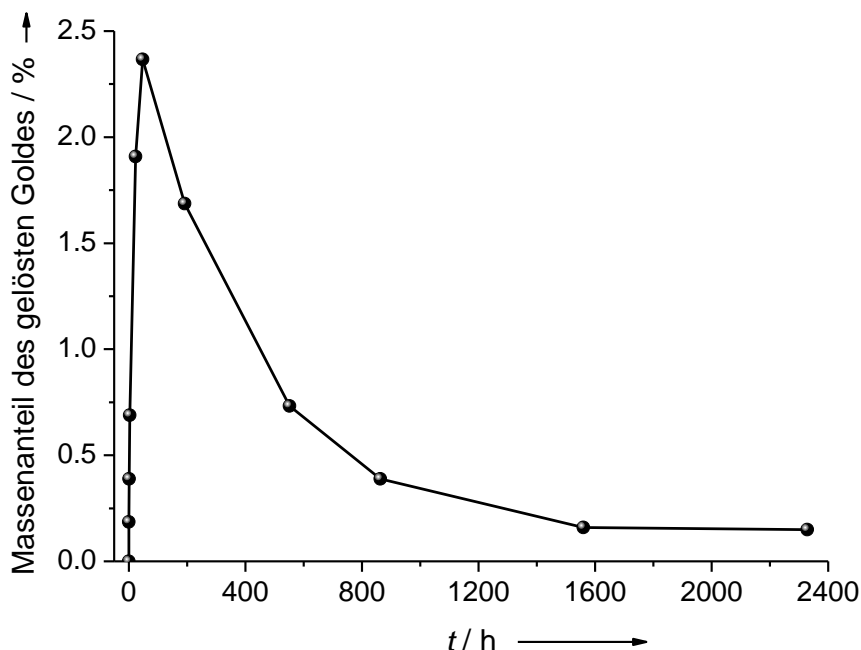


Abbildung 66: Auflösung TPPTS-stabilsierter Gold-Nanopartikel ($d = 23$ nm), dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, in Reinstwasser bei 25 °C unter Verwendung einer Dialysemembran aus einem Celluloseester.

Der Maximalwert für den Massenanteil des gelösten Goldes der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel ($d = 23$ nm) beträgt nach 48 h (2 d) 2,3 %. Im Anschluss sinkt er kontinuierlich bis zu einem Wert von 0,15 % nach 2300 h (96 d). Es ist erkennbar, dass die Auflösung der Nanopartikel sehr schnell verläuft, jedoch langsamer als die Diffusion der Gold-Ionen durch die Dialysemembran. In einem Vorversuch konnte gezeigt werden, dass nach 30 min schon ein Massenanteil von 92 % der eingesetzten Gold-Ionen nach außen diffundiert waren (Abbildung 65). Somit ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Auflösung der Gold-Nanopartikel und nicht die Diffusion der Gold-Ionen durch die Membran. Das Absinken des Massenanteils

des gelösten Goldes im Dialysat ist vermutlich auf eine Interaktion der Dialysemembran mit den gebildeten Gold-Ionen zurückzuführen. Ohne diesen Einfluss wäre ein noch größerer Massenanteil der gelösten Nanopartikel im Dialysat detektierbar. Diskutiert werden muss auch eine mögliche Reduktion der gebildeten Gold-Ionen durch das TPPTS. Diese Möglichkeit wird in der Literatur vorgeschlagen.^[26] Im Vergleich mit den untersuchten 110 nm großen TPPTS-stabilisierten Nanopartikeln ist eine erhöhte Löslichkeit der 23 nm großen TPPTS-stabilisierten Nanopartikel erkennbar, was sicher auf die vergrößerte spezifische Oberfläche zurückzuführen ist. Der Maximalwert für den Massenanteil des gelösten Goldes beträgt für die 110 nm großen TPPTS-stabilisierten Nanopartikel nach 192 h (8 d) 0,42 %. Im Anschluss sinkt er kontinuierlich bis zu einem Wert von 0,1 % nach 2300 h (96 d). Verglichen mit den 23 nm großen TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln verläuft die Freisetzung der Gold-Ionen langsamer, was an der verminderten spezifischen Oberfläche liegen könnte.

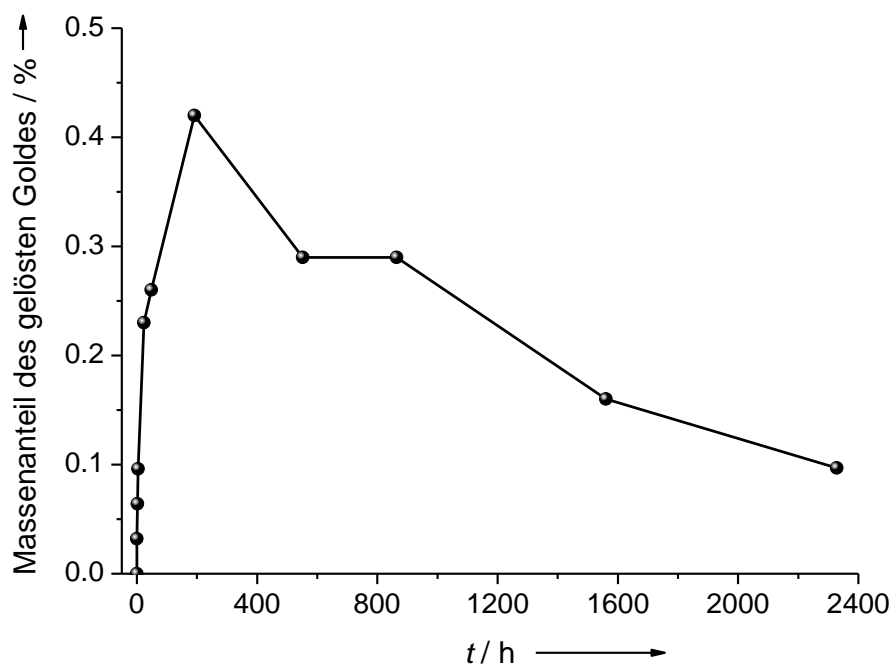


Abbildung 67: Auflösung TPPTS-stabilsierter Gold-Nanopartikel ($d = 110$ nm), dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, in Reinstwasser bei 25 °C unter Verwendung einer Dialysemembran aus einem Celluloseester.

Ferner wurde die Löslichkeit von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln mittels Dialyse untersucht. Die erhaltenen Ergebnisse sind in den Abbildungen 68 und 69

dargestellt. Die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 39 nm lösen sich ebenfalls relativ schnell auf und erreichen nach 216 h (9 d) den Maximalwert von 1 % des Massenanteils des gelösten Goldes im Dialysat. Dieser Wert verringert sich nach 1700 h (71 d) langsam auf 0,81 %. Die Werte liegen in der Größenordnung der Werte, die für TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel erhalten wurden, die eine identische Goldkerngröße besaßen, jedoch einen geringeren hydrodynamischen Durchmesser aufwiesen. Für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 110 nm wird nach 1200 h (50 d) der Maximalwert von 0,09 % des Massenanteils des gelösten Goldes im Dialysat erhalten. Das liegt etwa um den Faktor 5 unter dem Maximalwert der TPPTS-stabilisierten 110 nm großen Gold-Nanopartikel. Der Grund könnte in dem polydispersen Charakter der Nanopartikel liegen. Die Größe ist entscheidend für die Auflösung der Nanopartikel in einer endlich langen Zeit. Größere Partikel besitzen allgemein, bedingt durch die geringere spezifische Oberfläche, eine verminderte Löslichkeit als kleinere Partikel desselben Materials.

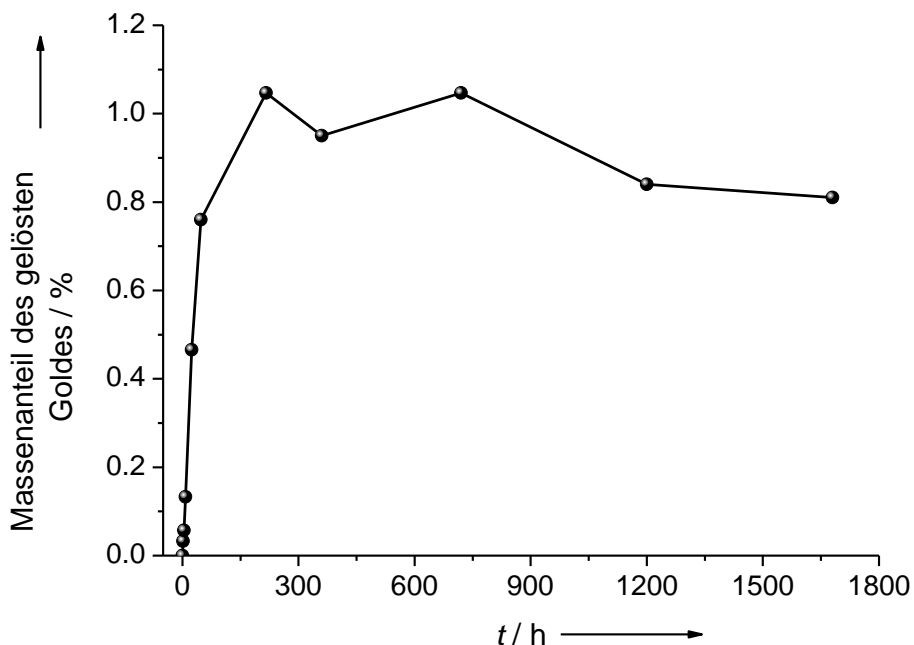


Abbildung 68: Auflösung PVP-stabilerter Gold-Nanopartikel ($d = 39$ nm), dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, in Reinstwasser bei 25 °C unter Verwendung einer Dialysemembran aus einem Celluloseester.

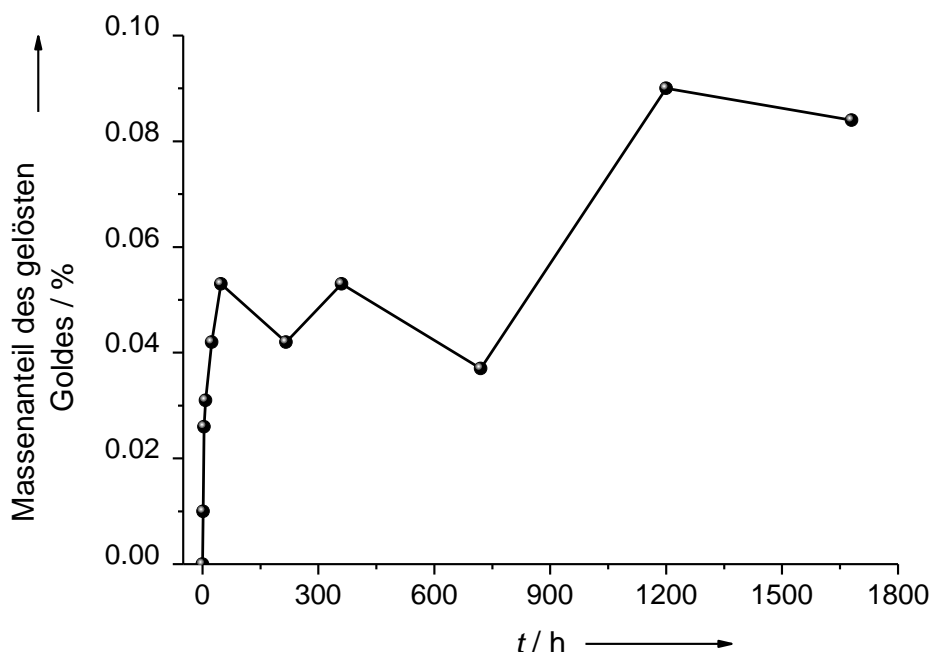


Abbildung 69: Auflösung PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel ($d = 110$ nm), dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, in Reinstwasser bei 25 °C unter Verwendung einer Dialysemembran aus einem Celluloseester.

5.2.4. Löslichkeitsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln mittels Ultrazentrifugation und Agarose-Gel

Zur Untersuchung der Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln wurde zunächst die Ultrazentrifugation ohne Agarose-Gel verwendet, die jedoch nicht den gewünschten Erfolg brachte. Die Gold-Nanopartikel konnten nicht quantitativ von den freigesetzten Gold-Ionen abgetrennt werden. Durch die Kombination der Ultrazentrifugation und eines Agarose-Gels sollte das möglich werden. Hierzu wurden in einem 500 mL mit Parafilm verschlossenen Glasgefäß die Nanopartikel mit bekannter Gold-Konzentration in Reinstwasser dispergiert. In regelmäßigen Abständen wurden Proben (jeweils 20 mL) entnommen und diese zur quantitativen Trennung von Gold-Ionen und Gold-Nanopartikeln ultrazentrifugiert. Hierzu kam ein 2 Gew.-%iges Agarose-Gel zum Einsatz. Das Agarose-Gel wurde dargestellt, indem Agarose (1,4 g; Sigma-Aldrich) und Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan-acetat-Puffer (TAE-Puffer; 70 mL, 1-fach konzentriert; Genaxxon Bioscience Ulm) in einem Becherglas zum Sieden erhitzt wurden, bis der Feststoff sich aufgelöst hatte. Anschließend wurde die Lösung im heißen Zustand in die leeren Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen gefüllt, so

dass nach dem Erstarren eine etwa 2 cm dicke Agarose-Gel-Schicht entstand. Darüber wurde das Gemisch aus Nanopartikeln und Gold-Ionen geschichtet und anschließend zentrifugiert. Die Zentrifugation erfolgte bei 40000 U min^{-1} ($1,17 \cdot 10^5 \text{ g}$) für 1 h. Die Nanopartikel wurden durch die Zentrifugalkraft in das Agarose-Gel gepresst und im Überstand bleiben die durch Oxidation der Nanopartikel generierten Gold-Ionen zurück. Zur Ermittlung der Gold-Konzentration mittels ICP-MS wurden 10 mL des Überstandes aus dem Zentrifugenröhrchen entnommen. Bis zur Bestimmung der Gold-Konzentration wurden die entnommenen Proben in einem verschlossenen Greiner-Röhrchen bei -20 °C gelagert. Die schematische Darstellung der Löslichkeitsuntersuchung an Gold-Nanopartikeln mittels Ultrazentrifugation und Agarose-Gel erfolgt in Abbildung 70.

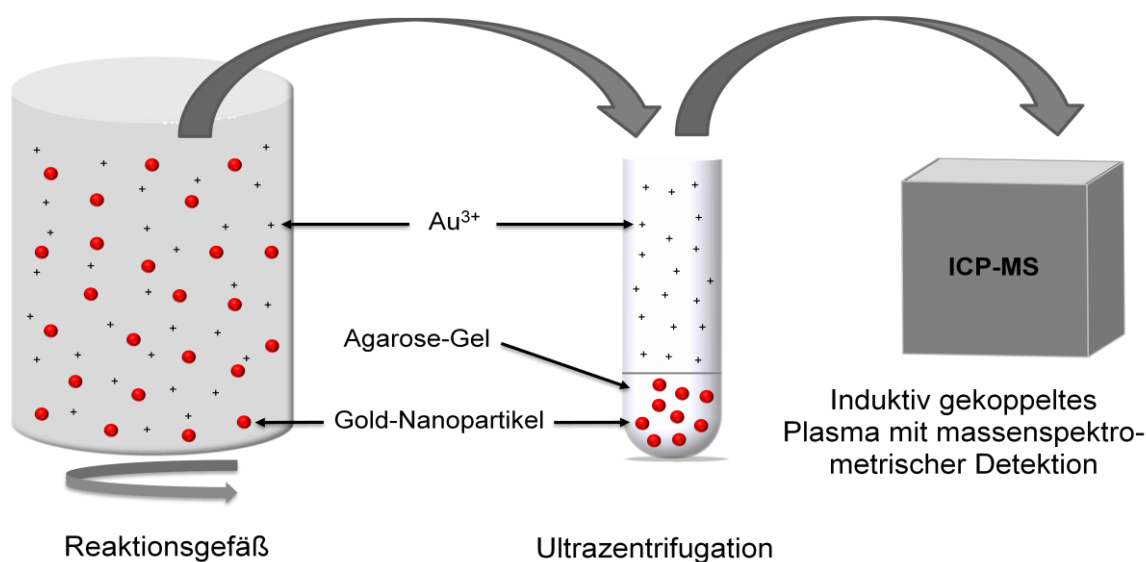


Abbildung 70: Schematische Darstellung der Löslichkeitsuntersuchung an Gold-Nanopartikeln mittels Ultrazentrifugation und Agarose-Gel.

Abbildung 71 zeigt das Gemisch aus Gold-Ionen und Nanopartikeln als homogene Phase über dem Agarose-Gel in dem Zentrifugenröhrchen vor der Ultrazentrifugation und das Agarose-Gel danach.

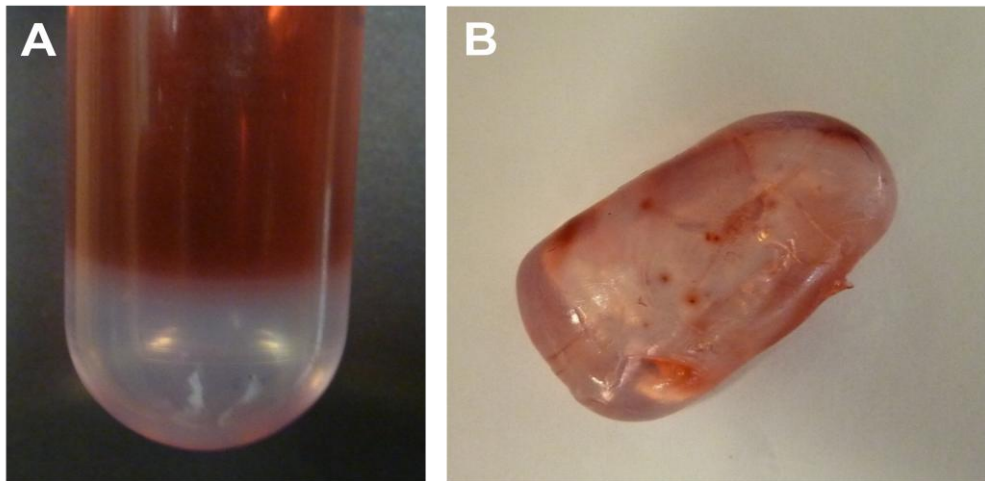


Abbildung 71: Gemisch aus Gold-Ionen und Nanopartikeln als homogene Phase über dem Agarose-Gel in dem Zentrifugenröhrchen vor der Ultrazentrifugation (A). Agarose-Gel mit eingeschlossenen Gold-Nanopartikeln nach der Ultrazentrifugation (B).

5.2.5. Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln

Es wurde die Auflösung von Gold-Nanopartikeln in Reinstwasser bei 25 °C mittels Ultrazentrifugation und Verwendung eines Agarose-Gels untersucht. Hierfür wurden zum einen TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 23 nm und zum anderen TPPTS-stabilisierte Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 110 nm verwendet. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den Abbildungen 72 und 73 dargestellt.

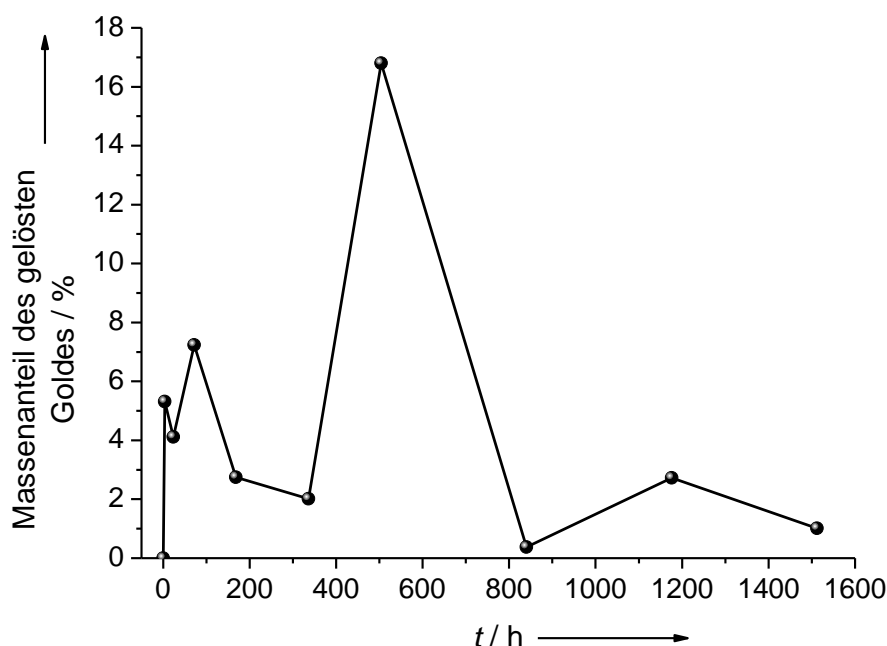


Abbildung 72: Auflösung TPPTS-stabilsierter Gold-Nanopartikel ($d = 23$ nm), dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, in Reinstwasser bei 25 °C und Verwendung eines Agarose-Gels zur Trennung von Gold-Ionen und Nanopartikeln.

Der Maximalwert für den Massenanteil des gelösten Goldes der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel ($d = 23$ nm) beträgt nach 504 h (21 d) 16,8 %. Die Werte vor und nach diesem Messpunkt liegen mit 7,24 % nach 72 h (3 d) bzw. mit 1,01 % nach 1512 h (63 d) deutlich darunter. Diese Schwankungen können mit einer nicht quantitativen Trennung der Gold-Ionen von den Gold-Nanopartikeln erklärt werden. Im Vergleich mit den untersuchten 110 nm großen TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln ist eine erhöhte Löslichkeit der 23 nm großen TPPTS-stabilisierten Nanopartikel erkennbar, was auf die vergrößerte spezifische Oberfläche zurückzuführen ist. Der Maximalwert für den Massenanteil des gelösten Goldes beträgt für die 110 nm TPPTS-stabilisierten Nanopartikel nach 1176 h (49 d) 2,19 %. Zwischen dem Wert für den Massenanteil des gelösten Goldes nach 4 h und nach 1176 h (49 d) alterniert die Gold-Konzentration und erreicht einen Minimalwert von 0,54 % nach 336 h (14 d). Auch das deutet auf eine nicht quantitative Trennung von Nanopartikeln und Ionen hin. Verglichen mit den 23 nm TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln verläuft die Freisetzung der Gold-Ionen langsamer, was an der verminderten spezifischen Oberfläche liegen könnte.

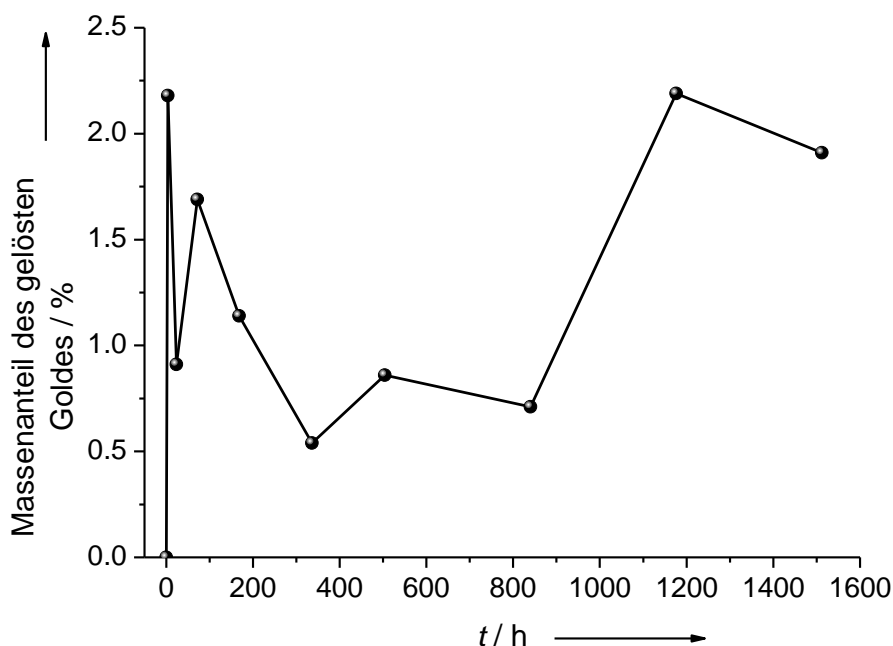


Abbildung 73: Auflösung TPPTS-stabilsierter Gold-Nanopartikel ($d = 110$ nm), dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, in Reinstwasser bei 25 °C und Verwendung eines Agarose-Gels zur Trennung von Gold-Ionen und Nanopartikeln.

Ferner wurde die Löslichkeit von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln mittels Agarose-Gel und Ultrazentrifugation untersucht. Die erhaltenen Ergebnisse sind in den Abbildungen 74 und 75 dargestellt. Die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 39 nm lösen sich ebenfalls relativ schnell auf und erreichen nach 1512 h (63 d) den Maximalwert von 4,34 % des Massenanteils des gelösten Goldes. Die Masse des gelösten Goldes alterniert auch hier sehr stark, was eine quantitative Trennung von Gold-Ionen und Nanopartikeln in Frage stellt. Die Werte liegen unter den Werten, die für TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel erhalten wurden, die eine identische Goldkerngröße besaßen jedoch einen geringeren hydrodynamischen Durchmesser aufwiesen. Für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 110 nm wird nach 4 h der Maximalwert von 0,93 % des Massenanteils des gelösten Goldes erhalten. Das liegt etwa um den Faktor 2 unter dem Maximalwert der TPPTS-stabilisierten 110 nm großen Gold-Nanopartikel. Der Grund könnte zum einen in dem polydispersen Charakter der Nanopartikel liegen. Die Größe ist entscheidend für die Auflösung der Nanopartikel in einer endlich langen Zeit. Größere Partikel besitzen

allgemein, bedingt durch die geringere spezifische Oberfläche, eine verminderte Löslichkeit als kleinere Partikel desselben Materials. Zum anderen ist das Alternieren des Massenanteils des gelösten Goldes im Verlauf der Untersuchung zu berücksichtigen. Diese stellt eine nicht quantitative Trennung der Gold-Nanopartikel von den Gold-Ionen zur Diskussion.

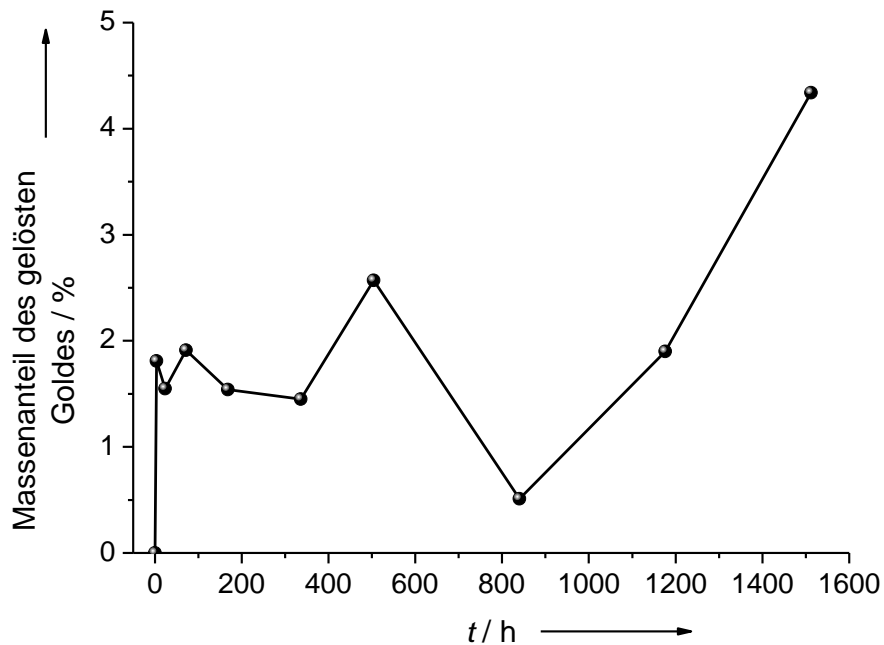


Abbildung 74: Auflösung PVP-stabilisierter Gold-Nanopartikel ($d = 39$ nm), dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, in Reinstwasser bei 25 °C und Verwendung eines Agarose-Gels zur Trennung von Gold-Ionen und Nanopartikeln.

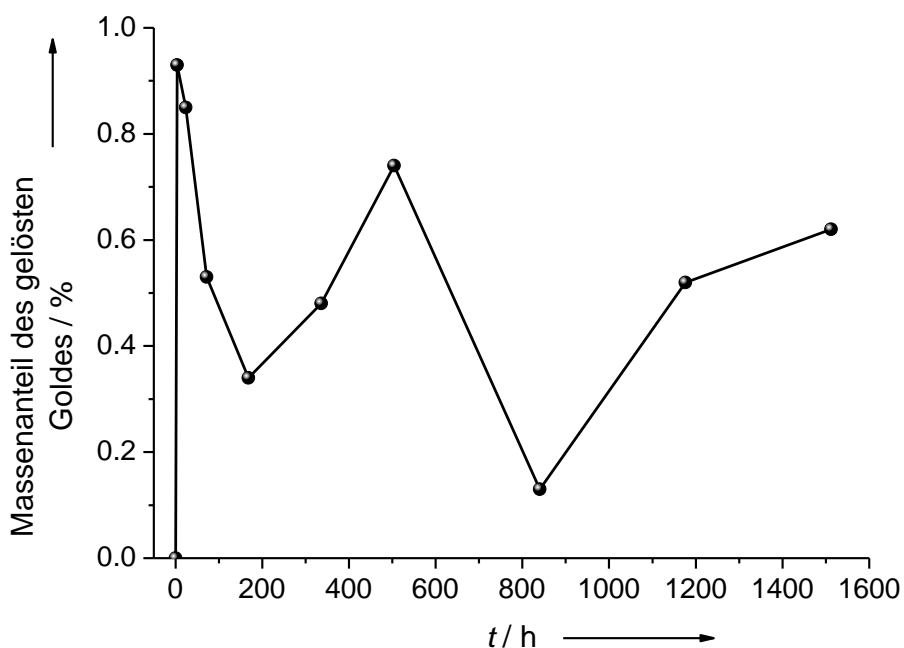


Abbildung 75: Auflösung PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel ($d = 110$ nm), dargestellt mit verminderter Citrat-Konzentration, in Reinstwasser bei 25 °C und Verwendung eines Agarose-Gels zur Trennung von Gold-Ionen und Nanopartikeln.

5.2.6. Löslichkeitsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln mittels Nanofiltration

Die Untersuchung der Auflösung von Gold-Nanopartikeln mittels Nanofiltration erfolgte in einem Gefäß mit Schraubverschluss aus Perfluoralkoxyalkan (PFA), um Adsorptionseffekte der gebildeten Gold-Ionen an der Gefäßwand zu minimieren. In diesem Gefäß befanden sich 500 mL Reinstwasser, in welchem Gold-Nanopartikel mit einer bekannten Gold-Konzentration dispergiert worden waren. Der Dispersion wurden Silber-Ionen als Silbernitrat zugesetzt, um eine mögliche Reduktion der gebildeten Gold-Ionen durch anwesende Bakterien zu verhindern. Die Silber-Konzentration betrug 1 mg L^{-1} . Auf einen Magnetrührstab wurde ebenfalls verzichtet. Stattdessen wurde das Gefäß täglich durch Schütteln homogenisiert. In regelmäßigen Abständen erfolgte die Probenahme, indem 15 mL dem Gefäß entnommen und mittels Millipore Amicon Ultra-15 3k Nanofilter zentrifugiert wurden. Die Zentrifugation erfolgte für 60 min bei 4000 U min^{-1} (2146 g). Hierbei wurden die Gold-Nanopartikel durch die Membran, die aus einer regenerierten Cellulose bestand und eine maximale Durchlässigkeit von etwa 2 nm besaß, quantitativ von den Gold-

Ionen getrennt, die sich am Ende der Zentrifugation im Filtrat befanden. Diese Methode ermöglichte zum einen eine quantitative Trennung der Gold-Ionen von den Nanopartikeln und zum anderen war die Kontaktzeit der Gold-Ionen mit dem Filter mit 60 min hinreichend gering, dass eine Reduktion der Ionen durch die regenerierte Cellulose ausgeschlossen werden kann. Bis zur Bestimmung der Gold-Konzentration wurden die dem Filtrat entnommenen Proben (jeweils 10 mL) in einem verschlossenen Greiner-Röhrchen bei -20 °C gelagert. Die Gold-Konzentration im Filtrat wurde mittels ICP-MS bestimmt. Die schematische Darstellung Löslichkeitsuntersuchung erfolgt in Abbildung 76, eine Darstellung der verwendeten Filtereinheiten in Abbildung 77.

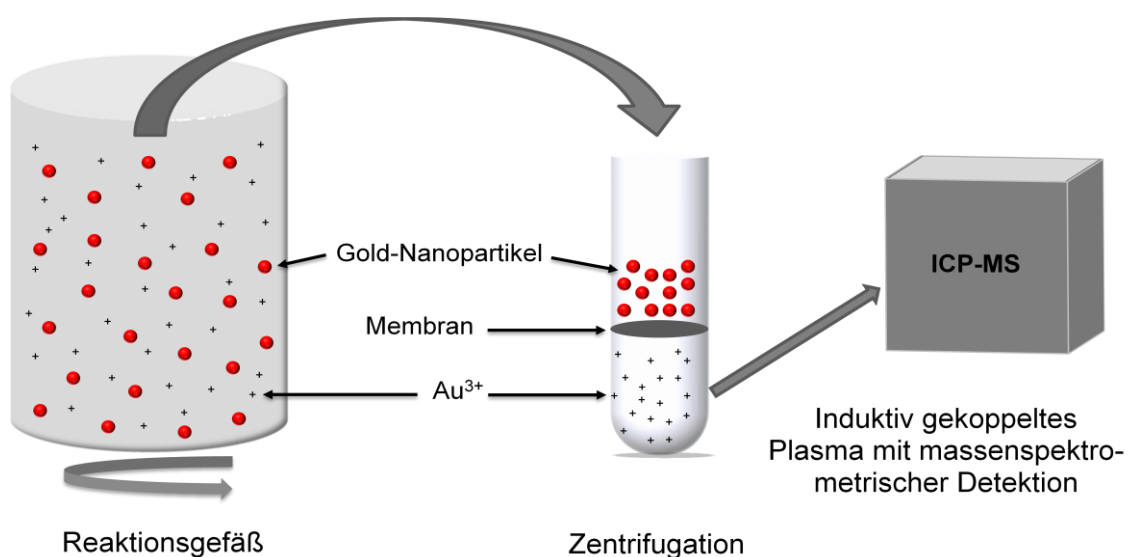


Abbildung 76: Schematische Darstellung der Löslichkeitsuntersuchung an Gold-Nanopartikeln mittels Nanofiltration.



Abbildung 77: Darstellung der verwendeten Amicon Ultra-15 3k Nanofilter der Firma Millipore.

5.2.7. Überprüfung der Interaktion zwischen Gold-Ionen und Filter

Zur Überprüfung der Interaktion zwischen Gold-Ionen und dem Filter wurde Tetrachlorogoldsäure in wässriger Lösung verwendet. Diese wurde als Simulationskomplex für Gold-Ionen in der Oxidationsstufe +III verwendet. Es wurden Gold-Konzentrationen von 500 ng L^{-1} bis 50 mg L^{-1} gewählt. Die Lösungen mit unterschiedlichen Goldgehalten wurden wie oben bereits beschrieben zentrifugiert. Die Gold-Konzentration der Ausgangslösungen sowie der Filtrate wurden mittels ICP-MS bestimmt. Die Abbildungen 78 und 79 zeigen die Ergebnisse der Untersuchung. Tabelle 9 stellt die ermittelten pH-Werte der filtrierten und unfiltrierten Lösungen dar.

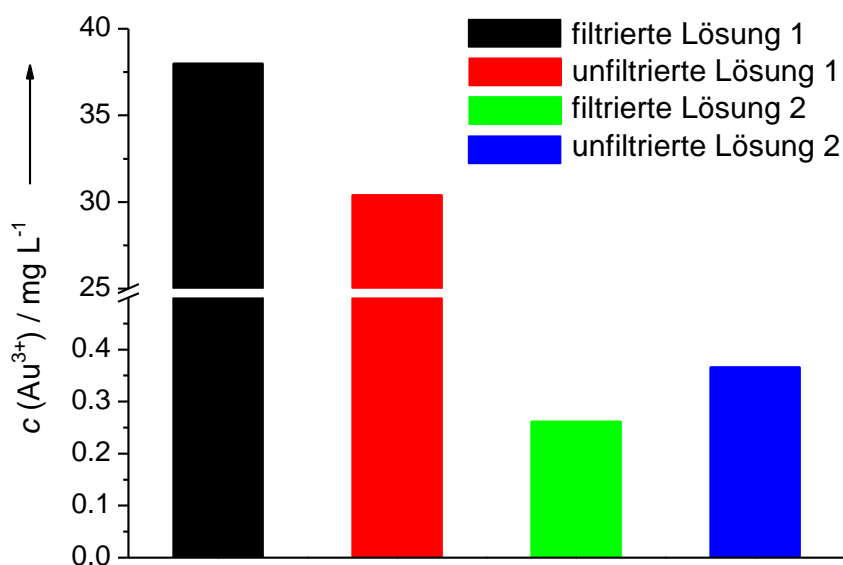


Abbildung 78: Darstellung der Gold-Konzentrationen in den filtrierten und unfiltrierten Lösungen 1 und 2. Die theoretisch zu erwartende Gold-Konzentration liegt in Lösung 1 bei 50 mg L^{-1} und in Lösung 2 bei $0,5 \text{ mg L}^{-1}$.

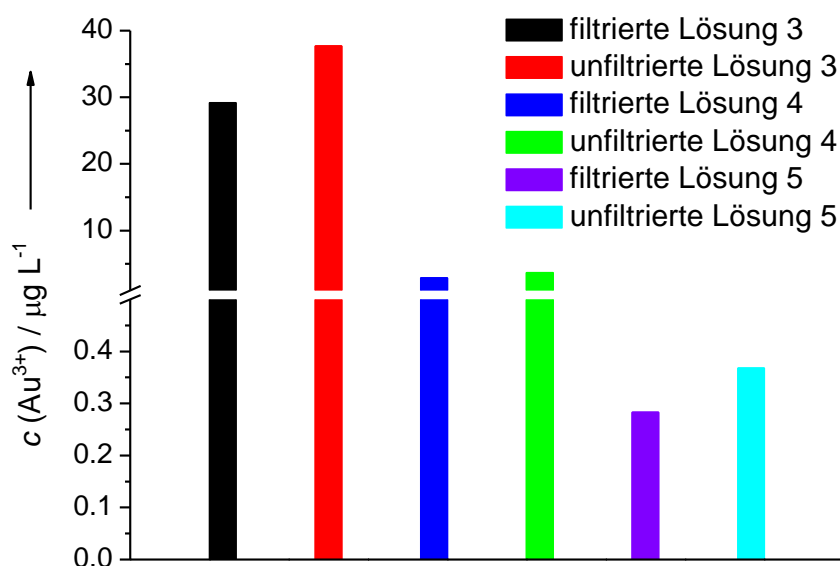


Abbildung 79: Darstellung der Gold-Konzentrationen in den filtrierte und unfiltrierten Lösungen 3 bis 5. Die theoretisch zu erwartende Gold-Konzentration liegt in Lösung 3 bei $50 \mu\text{g L}^{-1}$, in Lösung 4 bei $5 \mu\text{g L}^{-1}$ und in Lösung 5 bei $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabelle 9: Darstellung der pH-Werte der filtrierte und unfiltrierten Lösungen.

Lösung	pH-Wert der filtrierte Lösung	pH-Wert der unfiltrierten Lösung
1	5,25	5,02
2	6,50	6,13
3	6,48	6,27
4	6,69	6,41
5	7,26	6,88

Die pH-Werte der unfiltrierten Lösungen sind in allen Fällen niedriger als die pH-Werte der filtrierte Lösungen. Das zeigt, dass ein Teil des Gold-Komplexes (HAuCl_4) durch den Filter zurückgehalten wurde. Mit Ausnahme von Lösung 1 unterstützen diese Ergebnisse die Ergebnisse der Bestimmung der Gold-Konzentration der Lösungen 1 bis 5. Dort war die Gold-Konzentration in den unfiltrierten Lösungen in jedem Fall höher als in den filtrierte Lösungen.

5.2.8. Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln

Zu Beginn einer Versuchsreihe wurden jeweils frisch dargestellte Gold-Nanopartikel gereinigt und sofort mit einem Amicon-Nanofilter zentrifugiert. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass sich noch keine Gold-Ionen gebildet hatten. In allen Fällen war die Gold-Konzentration im Filtrat unterhalb der Nachweisgrenze von 30 ng L^{-1} . Somit konnte gezeigt werden, dass sich die Methode prinzipiell eignet, um Gold-Nanopartikel von Gold-Ionen quantitativ zu trennen. Die folgende Abbildung zeigt den Verlauf der Auflösung von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln, dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode. Die Auflösung der Nanopartikel verläuft relativ langsam und erreicht einen konstanten Wert für den Massenanteil des gelösten Goldes nach 32 Tagen. Der maximale Wert für den Massenanteil des gelösten Goldes liegt bei $8 \cdot 10^{-3} \%$. Der Wert ist sehr gering, liegt jedoch signifikant über der Nachweisgrenze der Methode ICP-MS für Gold.

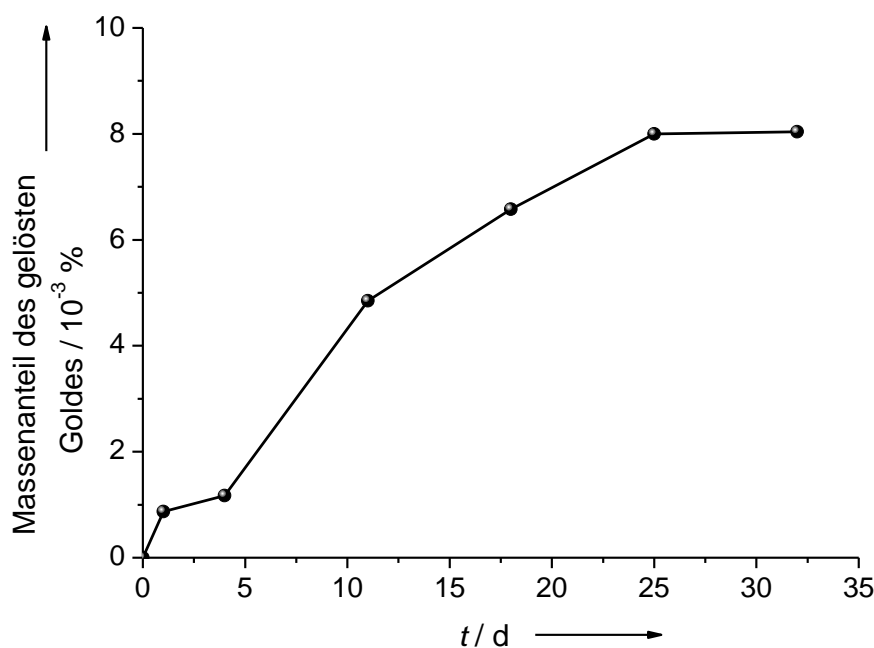


Abbildung 80: Auflösung TPPTS-stabilsierter Gold-Nanopartikel ($d = 23 \text{ nm}$), dargestellt durch die Standard-Citrat-Methode, in Reinstwasser bei 25°C unter Verwendung eines Millipore Amicon Ultra-15 3k Nanofilters.

5.2.9. Löslichkeit eines Gold-Barrens

Als Referenz wurde ein Gold-Barren ($m = 1$ g) in Reinstwasser bei 25 °C unter Zusatz von Silber-Ionen ($c(\text{Ag}^+) = 1 \text{ mg L}^{-1}$, zugegeben als AgNO_3) untersucht. Die Lagerung erfolgte in einem PFA-Gefäß, um die Adsorption der generierten Gold-Ionen an der Gefäßwand möglichst geringzuhalten. Der Zusatz an Silber-Ionen sollte vorhandene Reduktionskeime in Form von Bakterien eliminieren. Das Gefäß wurde in regelmäßigen Abständen durch Schütteln homogenisiert. In regelmäßigen Abständen wurde eine Probe (10 mL) dem Gefäß entnommen. Diese wurden bis zur Bestimmung der Gold-Konzentration mittels ICP-MS in einem verschlossenen Greiner-Röhrchen im gefrorenen Zustand bei -20 °C gelagert, um Adsorptions- und Reduktionseffekte der Gold-Ionen zu verhindern. Das Ergebnis ist in Abbildung 81 und ein Gold-Barren in Abbildung 82 dargestellt.

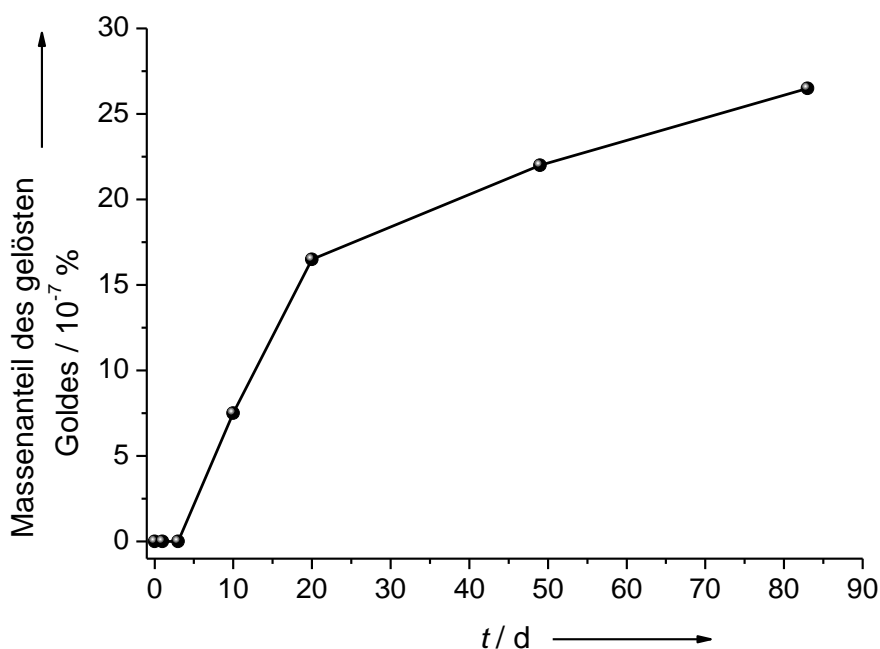


Abbildung 81: Auflösung eines Gold-Barrens ($m = 1$ g) in 500 mL Reinstwasser bei 25 °C, gelagert in einem geschlossenen PFA-Gefäß mit dem Zusatz an Silber-Ionen ($c(\text{Ag}^+) = 1 \text{ mg L}^{-1}$, zugegeben als AgNO_3).



Abbildung 82: Darstellung eines Gold-Barrens, der für die Auflösungsuntersuchungen verwendet wurde.

Es ist deutlich zu erkennen, dass die Auflösung des Gold-Barrens sehr langsam verläuft. Erst nach etwa 10 Tagen wird ein messbarer Teil des Goldes freigesetzt. Der Wert für den Massenanteil des gelösten Goldes ist selbst nach 83 Tagen noch nicht konstant, erreicht aber einen Wert von $26,5 \cdot 10^{-7} \%$. Der Wert liegt mit einem Faktor von etwa 3000 unter der Löslichkeit der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel, ist aber dennoch signifikant. Das Ergebnis bestätigt, dass die sehr viel geringere spezifische Oberfläche des Gold-Barrens im Vergleich zum nanoskopischen Gold dazu führt, dass wesentlich weniger Gold-Ionen freigesetzt werden.

Vergleich der Auflösung von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln mit der Auflösung eines Gold-Barrens

Im Folgenden ist die Masse der Gold-Ionen, die von Gold-Nanopartikeln und Gold-Barren freigesetzt wurden, auf die spezifische Oberfläche und die Auflösungszeit bezogen dargestellt. Das dient einer besseren Vergleichbarkeit und Beurteilung der erhaltenen Ergebnisse.

Die Gold-Nanopartikel besitzen eine kugelförmige Gestalt mit einem Durchmesser des Gold-Kerns von 13 nm. Daraus lässt sich das Volumen eines Gold-Nanopartikels berechnen.

Es gilt der folgende Zusammenhang:

$$V_{\text{eines Nanopartikels}} = \frac{4}{3}\pi r^3 = \frac{4}{3}\pi (6,5 \cdot 10^{-9} \text{ m})^3 = 1,15 \cdot 10^{-24} \text{ m}^3 \quad (14)$$

mit

$V_{\text{eines Nanopartikels}}$ = Volumen eines Gold-Nanopartikels

$$r = 6,5 \text{ nm} = 6,5 \cdot 10^{-9} \text{ m (Radius eines Gold-Nanopartikels)}$$

Für die Oberfläche eines Gold-Nanopartikels gilt der folgende Zusammenhang:

$$O_{\text{eines Nanopartikels}} = 4\pi r^2 = 4\pi(6,5 \cdot 10^{-9} \text{ m})^2 = 5,31 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2 \quad (15)$$

mit

$O_{\text{eines Nanopartikels}}$ = Oberfläche eines Gold-Nanopartikels

Der aus den Gold-Nanopartikeln freigesetzte Massenanteil beträgt nach 32 d (768 h) $8,04 \cdot 10^{-3}$ Gew.-%. Die Goldkonzentration beträgt $0,738 \mu\text{g L}^{-1}$. Bezogen auf das Volumen von 500 mL in dem Gefäß wird die folgende freigesetzte Masse, in Form von Gold-Ionen, erhalten:

$$m_{\text{freigesetzt}} = 0,369 \mu\text{g} = 3,69 \cdot 10^{-10} \text{ kg}$$

Es wurden Gold-Nanopartikel mit der folgenden Masse zu Beginn des Experiments eingesetzt:

$$m_{\text{Nanopartikel}} = 4,59 \text{ mg} = 4,59 \cdot 10^{-6} \text{ kg}$$

Aus der Gold-Dichte ρ_{Au} und der Masse der Gold-Nanopartikel $m_{\text{Nanopartikel}}$ lässt sich das Volumen V_{ges} aller Gold-Nanopartikel berechnen.

$$V_{\text{ges}} = \frac{m_{\text{Nanopartikel}}}{\rho_{\text{Au}}} = \frac{4,59 \cdot 10^{-6} \text{ kg}}{19320 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}} = 2,37 \cdot 10^{-10} \text{ m}^3 \quad (16)$$

Die Anzahl aller Nanopartikel $Z_{\text{aller Nanopartikel}}$ lässt sich aus V_{ges} und $V_{\text{eines Nanopartikels}}$ errechnen.

$$Z_{\text{aller Nanopartikel}} = \frac{V_{\text{ges}}}{V_{\text{eines Nanopartikels}}} = \frac{2,37 \cdot 10^{-10} \text{ m}^3}{1,15 \cdot 10^{-24} \text{ m}^3} = 2,06 \cdot 10^{14} \quad (17)$$

Die Gesamtoberfläche O_{ges} der Gold-Nanopartikel in dem Volumen von 500 mL in dem Gefäß ergibt sich wie folgt:

$$O_{ges} = Z_{aller\ Nanopartikel} \cdot O_{eines\ Nanopartikels} =$$
$$2,06 \cdot 10^{14} \cdot 5,31 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2 = 0,109 \text{ m}^2 \quad (18)$$

Aus der freigesetzten Masse, in Form der Gold-Ionen, nach 768 h und der Gesamtoberfläche aller Gold-Nanopartikel in der Dispersion erhält man den folgenden Zusammenhang:

$$\frac{3,69 \cdot 10^{-10} \text{ kg}}{0,109 \text{ m}^2 \cdot 768 \text{ h}} = 4,41 \cdot 10^{-12} \frac{\text{kg}}{\text{m}^2 \text{ h}}$$

Der Gold-Barren besitzt eine Masse von 1 g und die Maße 15 mm (Breite), 8 mm (Höhe) und 0,5 mm (Tiefe). Die freigesetzte Gold-Masse, in Form von Gold-Ionen, beträgt nach 83 d (1992 h) $2,65 \cdot 10^{-11} \text{ kg}$ oder $26,5 \cdot 10^{-7} \text{ Gew.-%}$. Aus den Außenmaßen des Barrens ist die spezifische Oberfläche zu errechnen. Sie beträgt $2,63 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$. Das Volumen des Gefäßes, in dem sich der Gold-Barren während des Versuchs befand, betrug 500 mL.

Aus diesen Daten lässt sich folgender Zusammenhang formulieren:

$$\frac{2,65 \cdot 10^{-11} \text{ kg}}{2,63 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \cdot 1992 \text{ h}} = 5,06 \cdot 10^{-11} \frac{\text{kg}}{\text{m}^2 \text{ h}}$$

Tabelle 10: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse für die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel und den Gold-Barren.

	m(Au) zu Beginn / mg	m(Au ³⁺) / ng	m(Au ³⁺) / kg m ⁻² h ⁻¹	Gelöstes Au ³⁺ nach X Tagen
TPPTS- stabilisierte Gold-Nano- partikel, 13 nm Gold- Kern	4,59	369	$4,41 \cdot 10^{-12}$	32
Gold-Barren	1000	26,5	$5,06 \cdot 10^{-11}$	83

Der Vergleich der freigesetzten Gold-Massen, bezogen auf die spezifische Oberfläche und die Auflösungszeit, zeigt, dass die freigesetzte Masse an Gold-Ionen für den Gold-Barren höher ausfällt als für die Gold-Nanopartikel. Die absolute freigesetzte Masse der Gold-Ionen liegt für die Gold-Nanopartikel etwa um den Faktor 10 höher als für den Gold-Barren. Der Oberflächeneffekt (Nanoeffekt), der für unedlere Materialien häufig beobachtet wird und sich in einer erhöhten Löslichkeit des Materials äußert, ist für die hier untersuchten Gold-Nanopartikel in Reinstwasser bei 25 °C unter Luftatmosphäre nicht zu beobachten.

5.2.10. Zusammenfassung der Ergebnisse der Löslichkeitsuntersuchungen

Ein Teil dieser Arbeit bestand in der Untersuchung der Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln in Abhängigkeit von der Größe und von der Funktionalisierung. Hierbei sind drei Wege verfolgt worden, um die Gold-Nanopartikel von den gebildeten Gold-Ionen quantitativ zu trennen. Zunächst ist eine Dialysemembran aus zwei unterschiedlichen Membranen zum Einsatz gekommen. Beide Materialien, sowohl die regenerierte Cellulose als auch der Celluloseester, zeigten eine Reaktion mit den durch Oxidation gebildeten Gold-Ionen. Als geeigneter erwies sich die Celluloseester-Membran. Es folgte die Untersuchung der Löslichkeit der Nanopartikel durch den Einsatz eines Agarose-Gels, welches die Gold-Nanopartikel aus der Dispersion quantitativ entfernen und binden sollte. Die Idee war, dass durch die Ultrazentrifugation die Nanopartikel durch die Zentrifugalkraft in das Gel eingebettet werden, sodass im Überstand nur noch die in Reinstwasser vorliegenden Gold-Ionen

zurückbleiben. Darüber hinaus wurde die Auflösung der Nanopartikel mit einem kommerziell erhältlichen Nanofilter untersucht. Dieser besaß eine maximale Porenweite von 2 nm, womit sichergestellt werden konnte, dass die Gold-Nanopartikel mit einem Durchmesser des Goldkerns von 13 nm quantitativ durch die Filtermembran zurückgehalten werden. Die Löslichkeit wurde in allen Fällen in Reinstwasser, bei einer Temperatur von 25 °C und unter Luftatmosphäre untersucht. Es zeigte sich, dass für alle Proben im entsprechenden Vergleich die Konzentration der gebildeten Gold-Ionen in den Dialyseexperimenten geringer ausfiel als in den Versuchen mit dem Agarose-Gel. Der geringste Wert wurde durch die Nanofiltration erhalten, der zudem noch konstant blieb und keine Interaktionen mit der Membran zeigte. Der Grund liegt zum einen in der geringen Kontaktzeit der Gold-Ionen mit der Membran des Filters und in der sehr geringen Porenweite der Membran. Ferner ist zu erkennen, dass die kleineren Nanopartikel im Vergleich zu den größeren Nanopartikeln eine erhöhte Freisetzung der Gold-Ionen zeigten. Der Grund ist die größere spezifische Oberfläche der 23 nm bzw. 39 nm großen Nanopartikel im Vergleich zu den 110 nm großen Nanopartikeln. Die Ergebnisse, die durch die Dialyseexperimente und die Ultrafiltration mittels Agarose-Gel erhalten wurden, sind kritisch zu behandeln. Es ist nicht auszuschließen, dass neben den durch Oxidation gebildeten Gold-Ionen auch Nanopartikel erfasst wurden, die nicht quantitativ von den Ionen getrennt werden konnten. Die Tabelle 11 zeigt eine Übersicht der erhaltenen Ergebnisse für die unterschiedlichen Verfahren.

In der Literatur wird über Gold-Nanopartikel berichtet, die in einem Copräzipitat mit Mangan(II)hydroxid vorlagen. Die Gold-Nanopartikel besaßen eine Größe zwischen 10 nm und 20 nm. Diese konnten im Gegensatz zum Gold in der makroskopischen Volumenphase durch Zusatz einer 1 M HCl gelöst werden.^[175] Das zeigt, dass sich die Eigenschaften bezüglich der Löslichkeit zwischen der Volumenphase und der nanoskopischen Phase des Goldes deutlich unterscheiden. Ferner wird über die Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln berichtet, die in einer wässrigen Cl-/H₂O₂-Lösung zum Au³⁺ oxidiert werden konnten.^[176] Darüber hinaus ist es möglich, nanopartikuläres Gold elektrochemisch in saurer Lösung zu oxidieren.^[177, 178] *Larsen et al.* berichten über die Freisetzung von Gold-Ionen aus 20-45 µm großen Gold-Partikeln durch Makrophagen.^[179] So sind auch Archaeobakterien, z.B. *Pyrobaculum islandicum*, in der Lage Gold zu oxidieren und zu komplexieren.^[180] Auch im menschlichen

Organismus vorkommende Stoffe, wie z.B. die Aminosäure Histidin, zeigen ein großes Potential für eine Goldlöslichkeit.^[181] Histidin ist im menschlichen Organismus oft in aktiven Zentren von Enzymen zugegen. Eine Störung des Histidinhaushalts könnte weitreichende Folgen besitzen, bis hin zur Anämie.^[182] Eine solche Störung wäre durch eine vermehrte Freisetzung von Gold-Ionen aus in den Körper eingebrachten Nanopartikeln möglich. *Kim et al.* berichten über die reversible Darstellung und Löslichkeit von Gold-Nanopartikeln unter dem Einfluss einer UV-Bestrahlung. Die Reaktion findet in THF in Gegenwart von Sauerstoff und Chlorid-Ionen statt.^[183]

Verglichen mit den in der Literatur dargestellten Ergebnissen bleibt festzustellen, dass in der Literatur häufig sehr extreme Bedingungen für eine Goldlöslichkeit zu finden sind. Aber auch Organismen (Makrophagen) und Moleküle (Histidin), die auch im Menschen eine wichtige Aufgabe besitzen, wird ein Potential zur Goldlöslichkeit zugeschrieben. Entscheidend für einen schädigenden Effekt ist jedoch die Konzentration der gebildeten Gold-Ionen. Zieht man für eine solche Beurteilung die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse hinzu, bleibt festzustellen, dass die aus den Nanopartikeln freigesetzte Menge an Gold-Ionen sehr gering war. Hierbei bezieht sich die Beurteilung auf die Ergebnisse, die mittels Nanofiltration erhalten worden sind. Die beiden übrigen Methoden, Dialyse und Ultrazentrifugation mittels Agarose-Gel, führten zu Ergebnissen, die kritisch zu betrachten sind. Es ist dort nicht auszuschließen, dass die Trennung von Ionen und Nanopartikeln nicht quantitativ erfolgte. Es kann also vermutet werden, dass die freigesetzte Menge an Gold-Ionen keinen schädigenden Effekt auf den menschlichen Organismus haben wird. Um das zu bestärken, müssten weitere Versuche, u.a. in biologischen Medien, erfolgen.

Tabelle 11: Ergebnisse der Untersuchungen der Löslichkeit unterschiedlicher Gold-Nanopartikel mittels verschiedener Verfahren zur Trennung der Gold-Ionen von den Nanopartikeln.

Trennverfahren	Untersuchtes Material	Maximale Freisetzung / %
Dialyse	Gold-Nanopartikel, TPPTS, 23 nm	2,3
Dialyse	Gold-Nanopartikel, TPPTS, 110 nm	0,42
Dialyse	Gold-Nanopartikel, PVP, 39 nm	1,0
Dialyse	Gold-Nanopartikel, PVP, 110 nm	0,09
Ultrazentrifugation mittels Agarose-Gel	Gold-Nanopartikel, TPPTS, 23 nm	16,8
Ultrazentrifugation mittels Agarose-Gel	Gold-Nanopartikel, TPPTS, 110 nm	2,19
Ultrazentrifugation mittels Agarose-Gel	Gold-Nanopartikel, PVP, 39 nm	4,34
Ultrazentrifugation mittels Agarose-Gel	Gold-Nanopartikel, PVP, 110 nm	0,93
Nanofiltration	Gold-Nanopartikel, TPPTS, 23 nm	$8 \cdot 10^{-3}$
-	Gold-Barren	$26,5 \cdot 10^{-7}$

5.3. Agglomerationsuntersuchungen an Gold-Nanopartikeln in unterschiedlichen biologischen Medien

5.3.1. Agglomerationsverhalten von TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln in RPMI mit 0,001-10 % FCS

Um Zelluntersuchungen mit den dargestellten Gold-Nanopartikeln durchführen zu können, ist es notwendig, dass die Nanopartikel in Zellkulturmedien eine stabile Dispersion bilden. Hiermit wird gewährleistet, dass die Zellen einzelnen Nanopartikeln ausgesetzt werden und nicht größeren Agglomeraten. Zur Untersuchung der Stabilität der Gold-Nanopartikel in Zellkulturmedien wurden diese in RPMI dispergiert und die Größenverteilung mittels DLS nach 20 min in Abhängigkeit unterschiedlicher zugesetzter Proteinkonzentrationen bei 25 °C bestimmt. RPMI ist ein Zellkulturmedium, das für Leukozyten und ähnliche menschliche und tierische Zelltypen verwendet wird. RPMI besitzt eine definierte chemische Zusammensetzung und enthält sämtliche essentielle Verbindungen, die eine Zelle zum Überleben benötigt, wie z.B. Glukose, Salze, verschiedene Aminosäuren und Vitamine. RPMI basiert darüber hinaus auf einem Hydrogencarbonat-Puffersystem. Die folgende Tabelle 12 stellt die Zusammensetzung des RPMI dar.

Tabelle 12: Zusammensetzung des Zellkulturmediums RPMI.

Stoff	mg L ⁻¹	Stoff	mg L ⁻¹
NaCl	6000	L-Arginin	200
KCl	400	L-Asparagin	50
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	1512	L-Asparaginsäure	20
MgSO ₄ ·7H ₂ O	100	L-Cystein	50
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	100	L-Glutamin	300
D-Glukose	2000	L-Glutaminsäure	20
Phenolrot	5	Glycin	10
NaHCO ₃	2000	L-Histidin	15
Gluthathion	1	L-Hydroxyprolin	20
Biotin	0,2	L-Isoleucin	50
Vitamin B ₁₂	0,005	L-Leucin	50
D-Ca-Pantothenat	0,25	L-Lysin·HCl	40
Cholinchlorid	3	L-Methionin	15
Folsäure	1	L-Phenylalanin	15
Myo-Inositol	35	L-Prolin	20
Nikotinamid	1	L-Serin	30
p-Aminobenzoessäure	1	L-Threonin	20
Pyridoxin·HCl	1	L-Tryptophan	5
Riboflavin	0,2	L-Tyrosin	20
Thiamin·HCl	1	L-Valin	20

Als Modellprotein diene zunächst das fötale Kälberserum (FCS). FCS besteht hauptsächlich aus anorganischen Salzen, Proteinen, Hormonen und Steroiden. Die im FCS enthaltenen Proteine dienen als Wachstumsfaktoren bei der Kultivierung von Zellen. Die Untersuchung erfolgte in reinem RPMI und mit Zusätzen an FCS mit einem Massenanteil zwischen 0,001 und 10 %. Es wurden sowohl TPPTS-stabilisierte als auch PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel verwendet. Die Ausgangskonzentration der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel betrug 477 mg L⁻¹, die der PVP-stabilisierten Nanopartikel 466 mg L⁻¹. Von beiden Gold-Nanopartikel Dispersionen wurden jeweils 50 µL mit 1 mL des Zellkulturmediums mit unterschiedlichen Massenanteilen an FCS gemischt und nach 20 min mittels Dynamischer Lichtstreu-

ung untersucht. Sowohl die Lagerung der Partikel als auch die Messung mittels Dynamischer Lichtstreuung fanden bei 25 °C unter Lichtausschluss statt. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in den Tabellen 13 und 14 zusammengefasst. Die Proben wurden jeweils dreimal gemessen, und es ist der Mittelwert mit der Standardabweichung angegeben.

Tabelle 13: Ergebnisse der Untersuchung von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Reduktion mit Citrat in Reinstwasser) mittels Dynamischer Lichtstreuung in reinem RPMI und mit unterschiedlichen Massenanteilen an FCS, nach 20 min bei 25 °C.

Medium	Größe / nm	Zetapotential / mV
Reinstwasser	25 ± 1	-30 ± 1
RPMI	684 ± 8	-29 ± 1
RPMI + 0,001% FCS	770 ± 68	-
RPMI + 0,01% FCS	740 ± 91	-
RPMI + 0,1% FCS	166 ± 3	-
RPMI + 1% FCS	64 ± 1	-
RPMI + 2% FCS	52 ± 4	-
RPMI + 3% FCS	54 ± 1	-
RPMI + 4% FCS	53 ± 2	-
RPMI + 6% FCS	52 ± 1	-
RPMI + 7% FCS	54 ± 1	-
RPMI + 8% FCS	52 ± 1	-
RPMI + 9% FCS	66 ± 1	-
RPMI + 10% FCS	53 ± 3	-

Tabelle 14: Ergebnisse der Untersuchung von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Reduktion mit Citrat in Reinstwasser) mittels Dynamischer Lichtstreuung in reinem RPMI und mit unterschiedlichen Massenanteilen an FCS, nach 20 min bei 25 °C.

Medium	Größe / nm	Zetapotential / mV
Reinstwasser	45 ± 2	-30 ± 1
RPMI	165 ± 23	-11 ± 1
RPMI + 0,001% FCS	137 ± 9	-8 ± 1
RPMI + 0,01% FCS	98 ± 4	-
RPMI + 0,1% FCS	56 ± 1	-
RPMI + 1% FCS	49 ± 3	-
RPMI + 2% FCS	47 ± 4	-
RPMI + 3% FCS	44 ± 3	-
RPMI + 4% FCS	46 ± 2	-
RPMI + 6% FCS	44 ± 1	-
RPMI + 7% FCS	45 ± 2	-
RPMI + 8% FCS	42 ± 2	-
RPMI + 9% FCS	43 ± 1	-
RPMI + 10% FCS	48 ± 5	-

Für beide Arten der Gold-Nanopartikel (TPPTS- und PVP-stabilisiert) ist eine starke Agglomeration in reinem RPMI zu erkennen. Der Grund liegt in den zahlreichen freien Ladungsträgern, die in Form von gelösten Salzen (z.B. NaCl, KCl) in dem Zellkulturmedium RPMI vorliegen. Dadurch kommt es zu einer Destabilisierung der elektrostatisch bzw. sterisch stabilisierten Gold-Nanopartikel in dem jeweiligen Medium. Die repulsiven Kräfte werden durch die entgegengesetzt geladenen freien Ladungsträger, die sich in dem RPMI befinden, verringert. Auch geringe Zusätze an FCS können das nicht verhindern. Erst ab einem Massenanteil von etwa 1 % FCS werden die Gold-Nanopartikel in RPMI stabilisiert. Das ist für beide Arten der Nanopartikel der Fall. Eine Erhöhung der FCS-Konzentration im RPMI bis zu einem Massenanteil von 10 % wirkt stabilisierend auf die Nanopartikel. Die Größe der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel nimmt zwar durch die Zugabe an FCS kontinuierlich ab, erreicht aber nicht die in Reinstwasser ermittelte Größe. Das deutet auf eine anteilige Adsorption des FCS auf der Goldoberfläche hin. Die PVP-stabilisierten

Nanopartikel zeigen hingegen keine signifikante Zunahme der Größe nach der Zugabe des FCS im Vergleich zur Größe der Nanopartikel in Reinstwasser. Das Zetapotential der Gold-Nanopartikel konnte nur in reinem RPMI und in RPMI mit einem Massenanteil an FCS von 0,001 % bestimmt werden. Mit steigendem FCS-Gehalt waren die Gold-Elektroden in der Küvette nach der Messung von einer schwarzen Schicht überzogen. Es ist unklar, woraus diese Schicht besteht. Diese Schicht ließ jedoch die Bestimmung sinnvoller Werte für das Zetapotential dieser Proben mehr zu, sodass im Folgenden diese Messungen nicht mehr durchgeführt wurden. Es ist jedoch ein Trend erkennbar. Das Zetapotential wird für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel um einige mV positiver bei gleichzeitig leichter Verringerung der Größe der Nanopartikel. Das könnte ein Hinweis auf die anteilige Adsorption des FCS an die Goldoberfläche sein. Die Abbildung 83 zeigt die erhaltenen Ergebnisse.

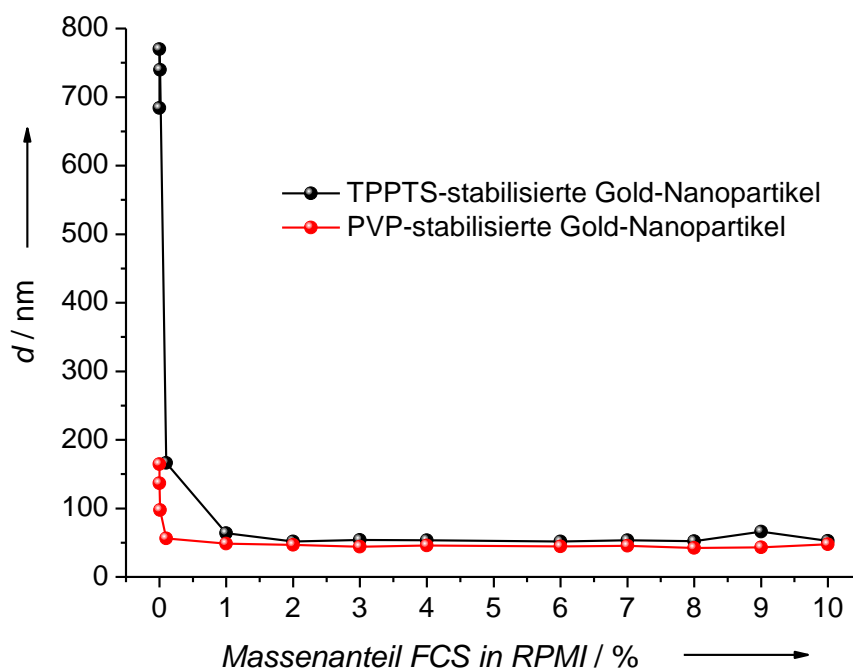


Abbildung 83: Hydrodynamischer Durchmesser TPPTS- und PVP-stablierter Gold-Nanopartikel (Reduktion mit Citrat in Reinstwasser) in reinem RPMI und mit unterschiedlichen Massenanteilen an FCS, nach 20 min bei 25 °C.

5.3.2. Agglomerationsverhalten von TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln in RPMI mit 1-10 % BSA

Das Rinderserumalbumin (*Bovine serum albumin*, BSA) ist ein Protein, das in reiner Form als Wachstumsfaktor Zellkulturen zugesetzt wird. Zur Untersuchung der Stabilität der Gold-Nanopartikel in Zellkulturmedien mit einem Zusatz an BSA wurden diese in RPMI mit einem Massenanteil an BSA von 1 bis 10 % dispergiert. Die Größenverteilung wurde mittels DLS nach 20 min Lagerung unter Lichtausschluss bei 25 °C ermittelt. Die Ausgangskonzentration der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel betrug 477 mg L^{-1} , die der PVP-stabilisierten Nanopartikel 466 mg L^{-1} . Von beiden Gold-Nanopartikel Dispersionen wurden jeweils 50 μL mit 1 mL des Zellkulturmediums, mit unterschiedlichen Massenanteilen an BSA, gemischt. Bei der DLS geht auch die Viskosität des Dispersionsmittels als Parameter in die Berechnung der Größe mit ein. BSA besitzt dabei eine höhere Viskosität als Reinstwasser oder ionisiertes Wasser. FCS hingegen beeinflusst die Viskosität nicht in dem Maße wie das BSA, sodass nur die Viskosität der unterschiedlichen RPMI/BSA-Gemische bestimmt wurde. Die Bestimmung erfolgte durch Herrn Dr. Lennart Treuel vom Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Universität Duisburg-Essen. Die Ergebnisse wurden bei der Ermittlung der hydrodynamischen Durchmesser der Gold-Nanopartikel entsprechend berücksichtigt. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in den Tabellen 15 und 16 zusammengefasst. Die Proben wurden jeweils dreimal gemessen, und es ist der Mittelwert mit Standardabweichung angegeben. Zudem ist die Viskosität der verschiedenen Dispersionen angegeben.

Tabelle 15: Ergebnisse der Untersuchung von TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Reduktion mit Citrat in Reinstwasser) mittels Dynamischer Lichtstreuung in reinem RPMI und mit unterschiedlichen Massenanteilen an BSA nach 20 min bei 25 °C.

Medium	Größe / nm	Zetapotential / mV	η / cP
Reinstwasser	25 ± 1	-30 ± 1	0,89
RPMI	684 ± 8	-29 ± 1	1,00
RPMI + 1% BSA	52 ± 3	-	1,02
RPMI + 2% BSA	42 ± 1	-	1,08
RPMI + 3% BSA	42 ± 3	-	1,14
RPMI + 4% BSA	40 ± 4	-	1,20
RPMI + 5% BSA	41 ± 2	-	1,26
RPMI + 6% BSA	50 ± 3	-	1,32
RPMI + 7% BSA	48 ± 1	-	1,39
RPMI + 8% BSA	49 ± 2	-	1,45
RPMI + 9% BSA	45 ± 1	-	1,50
RPMI + 10% BSA	46 ± 1	-	1,56

Tabelle 16: Ergebnisse der Untersuchung von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Reduktion mit Citrat in Reinstwasser) mittels Dynamischer Lichtstreuung in reinem RPMI und mit unterschiedlichen Massenanteilen an BSA, nach 20 min bei 25 °C.

Medium	Größe / nm	Zetapotential / mV	η / cP
Reinstwasser	45 ± 2	-30 ± 1	0,89
RPMI	165 ± 23	-11 ± 1	1,00
RPMI + 1% BSA	49 ± 5	-	1,02
RPMI + 2% BSA	45 ± 3	-	1,08
RPMI + 3% BSA	44 ± 3	-	1,14
RPMI + 4% BSA	42 ± 6	-	1,20
RPMI + 5% BSA	44 ± 9	-	1,26
RPMI + 6% BSA	57 ± 2	-	1,32
RPMI + 7% BSA	57 ± 1	-	1,39
RPMI + 8% BSA	50 ± 1	-	1,45
RPMI + 9% BSA	51 ± 2	-	1,50
RPMI + 10% BSA	53 ± 1	-	1,56

Für beide Arten der Gold-Nanopartikel (TPPTS- und PVP-stabilisiert) ist eine Agglomeration in reinem RPMI zu erkennen. Der Grund liegt in den zahlreichen freien Ladungsträgern, die in Form von gelösten Salzen (z.B. NaCl, KCl) in dem Zellkulturmedium RPMI vorliegen. Dadurch kommt es zu einer Destabilisierung der elektrostatisch bzw. sterisch stabilisierten Gold-Nanopartikel in dem jeweiligen Medium. Die repulsiven Kräfte werden durch die entgegengesetzt geladenen freien Ladungsträger, die sich in dem RPMI befinden, verringert. Durch Zusatz des BSA zu dem RPMI kommt es zu einer Stabilisierung der Gold-Nanopartikel in dem Zellkulturmedium. Das ist wie im Fall des FCS-Zusatzes zum RPMI für beide Arten der Nanopartikel der Fall. Eine Erhöhung der BSA-Konzentration im RPMI bis zu einem Massenanteil von 10 % wirkt ebenso stabilisierend auf die Nanopartikel. Die Größe der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel nimmt zwar durch die Zugabe an BSA ab, erreicht aber nicht die in Reinstwasser ermittelte Größe. Das deutet analog zur FCS-Untersuchung auf eine Adsorption des BSA auf der Goldoberfläche hin. Die PVP-stabilisierten Nanopartikel zeigen hingegen nur eine signifikante Zunahme der Größe für Massenanteile an BSA im Bereich zwischen 6 % und 10 % nach der

Zugabe des BSA im Vergleich zur Größe der Nanopartikel in Reinstwasser. Das lässt auch auf eine Adsorption des BSA auf der Goldoberfläche schließen. In Kapitel 5.4 wurde die BSA-Adsorption genauer untersucht und der Grad der Adsorption ermittelt. Dabei kamen die Thermogravimetrie und die Elementaranalyse zum Einsatz. Das Zetapotential der Gold-Nanopartikel konnte nur in reinem RPMI bestimmt werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 84 dargestellt.

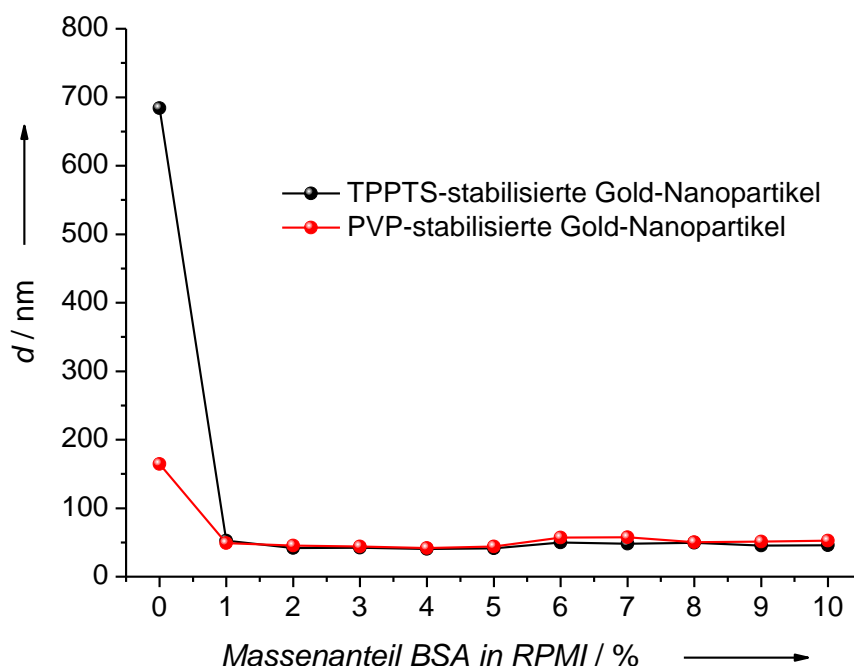


Abbildung 84: Hydrodynamischer Durchmesser TPPTS- und PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel (Reduktion mit Citrat in Reinstwasser) in reinem RPMI und mit unterschiedlichen Massenanteilen an BSA nach 20 min bei 25 °C.

5.3.3. Zusammenfassung der Ergebnisse der Agglomerationsuntersuchungen

Es konnte gezeigt werden, dass sowohl TPPTS- als auch PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel in reinem RPMI, welches über einen hohen Anteil freier Ladungsträger verfügt, nicht stabil sind. Die Folge ist eine starke Agglomeration der Nanopartikel in diesem Medium. Das wird durch die Zusätze an Proteinen, z.B. FCS oder BSA, verhindert.^[184] Die Nanopartikel nehmen in ihrer Größe im Vergleich zum Reinstwasser geringfügig zu, was auf eine Proteinadsorption hindeutet. In einem weiten Bereich waren die Gold-Nanopartikel stabil, was auch für andere Systeme durch *Murdock et al.* berichtet wird.^[185] Ein vergleichbares Ergebnis wurde für Wolfram-Carbid-Partikel erhalten, die ebenfalls von FCS bzw. BSA stabilisiert werden

können.^[186, 187] Ferner konnte die Stabilisierung von C₆₀ Buckminsterfullerenen durch Humanserumalbumin (HSA) in biologischen Medien gezeigt werden.^[188] Für Silber-Nanopartikel konnte ebenfalls bestätigt werden, dass FCS und BSA diese im biologischen Medium RPMI stabilisieren.^[189] In dem reinen biologischen Medium RPMI agglomerierten die untersuchten PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel.^[190] In der Literatur ist auch eine Untersuchung an kommerziell erhältlichen 60 nm großen Gold-Nanopartikeln erwähnt, deren Größe nach der Zugabe in humanes Blutplasma um 9 nm auf etwa 70 nm anstieg. Die Größenzunahme deutet auf eine Proteinadsorption an der Goldoberfläche hin.^[191] Die Anwesenheit der Proteine hat einen Einfluss auf die Oberfläche der Nanopartikel. Diese sind in der Lage die Oberflächenladung der Nanopartikel zu verändern, was wiederum einen Einfluss auf die biologische Aktivität ausüben kann. Das Maß der Agglomeration übt ebenfalls einen großen Einfluss auf die Ergebnisse der zellbiologischen Experimente aus. In der Literatur findet sich eine Studie zur Aufnahme von Cer(IV)oxid-Nanopartikeln in humanen Lungenfibroblasten. Dort konnte gezeigt werden, dass die Nanopartikel in den Zellkulturmedien agglomerierten und diese von den Zellen aufgenommen wurden. Es konnte auch nachgewiesen werden, dass größere Partikel (250-500 nm) leichter von Zellen aufgenommen wurden als kleine (25-50 nm).^[192] In einer Studie zu Gold-Nanopartikeln konnte gezeigt werden, dass die Aufnahme der Nanopartikel durch Endozytose größenabhängig ist. Gold-Nanopartikel mit einer Größe von 45 nm werden dabei besser von HeLa-Zellen aufgenommen als 70 nm große Gold-Nanopartikel.^[193] Ferner konnte auch die Temperaturabhängigkeit der Aufnahme von 60 nm großen Eisenoxid-Nanopartikeln durch Hirn-Astrozyten gezeigt werden.^[194] Eine weitere Studie konnte zeigen, dass die Transfektion, das Einbringen von z.B. DNA in lebende Zellen, durch größere mehrschalige Calciumphosphat-Nanopartikel verbessert werden kann.^[195] Die Ergebnisse belegen, dass es wichtig ist das Verhalten von Nanopartikeln in Zellkulturmedien zu untersuchen. Das ermöglicht es, über den Grad der Agglomeration und das Maß der Proteinadsorption eine Aussage treffen zu können. Eine detailliertere Untersuchung der Proteinabsorption auf der Oberfläche der Gold-Nanopartikel am Beispiel des BSA erfolgt im Kapitel 5.4. Dort wurde versucht, den Grad der Adsorption mittels Thermogravimetrie und Elementaranalyse zu ermitteln. Darüber hinaus wurde untersucht, ob ein teilweiser oder quantitativer Austausch des Liganden bzw. des Polymers erfolgt.

5.4. Bestimmung der Funktionalisierung von Gold-Nanopartikeln mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie

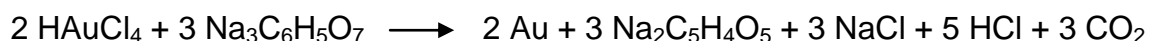
In diesem Kapitel wird der Grad der Funktionalisierung der mit Citrat dargestellten Gold-Nanopartikel mit einem Gold-Kern von 13 nm beschrieben. Als Stabilisatoren werden PVP und TPPTS verwendet. Es wird zu ermitteln versucht, ob das Citrat, welches zunächst die Nanopartikel stabilisiert, durch die Stabilisatoren quantitativ von der Oberfläche der Nanopartikel verdrängt wird. Im Fall des TPPTS ist das vorstellbar, da die Gold-Phosphor-Bindung stärker ist als die van der Waals-Wechselwirkung, die das Citrat mit der Goldoberfläche eingeht. Für das PVP ist auch denkbar, dass sich das Polymer um die Citrat-Schicht legt. Das würde auch das negative Zetapotential plausibel machen, welches für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel etwa -30 mV beträgt. Die Gold-Nanopartikel wurden gereinigt, gefriergetrocknet und mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie untersucht.

Darüber hinaus konnte in Kapitel 5.3 gezeigt werden, dass Gold-Nanopartikel durch das Protein BSA in Zellkulturmedien wie RPMI stabilisiert werden können. In einem Bereich zwischen 1 und 10 Gew.-% sind sowohl PVP- als auch TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel stabil. Es wird in diesem Kapitel versucht, den Grad der Adsorption des BSA auf der Gold-Nanopartikeloberfläche zu ermitteln. Hierzu werden sowohl PVP- als auch TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel mit einer konstanten Gold-Konzentration BSA-Lösungen zugesetzt. Die Massenanteile des BSA in der Lösung betragen hierbei 1 Gew.-%, 0,1 Gew.-% und 0,01 Gew.-%. Nach dem Einstellen eines Gleichgewichts zwischen Adsorption und Desorption des Proteins werden die Nanopartikel gereinigt und lyophilisiert. Der Feststoff wird mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie untersucht.

Die in diesem Kapitel durchgeführten Arbeiten erfolgten im Rahmen der Bachelor-Arbeit von Herrn B. Sc. Chemie Alexander Rostek. Die thermogravimetrische Untersuchung der Gold-Nanopartikel erfolgte in einem Temperaturbereich von 20 °C bis 1000 °C mit einer Heizrate von 5 K min⁻¹. Die Proben wurden unter Sauerstoffatmosphäre mit einer Durchflussrate von 50 mL min⁻¹ O₂ analysiert. Die Anteile von Gold und Natrium wurden mittels AAS bestimmt. Der organische Anteil wurde mittels Elementaranalyse ermittelt.

5.4.1. Untersuchung Citrat-stabilisierter Gold-Nanopartikel

Zunächst wurden Citrat-stabilisierte Gold-Nanopartikel mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie untersucht, um den organischen Anteil der Nanopartikel zu ermitteln. Zusätzlich sollte die Stöchiometrie des Stabilisators auf der Oberfläche der Nanopartikel geklärt werden. Die folgende Reaktionsgleichung beschreibt die Reduktion der Goldausgangsverbindung sowie die möglichen Reaktionsprodukte.



Das Trinatriumcitrat wirkt als Reduktionsmittel und wird dabei zunächst zum Natriumketoglutarat umgesetzt. Da die Reaktion mit einem Citrat-Überschuss durchgeführt wird, ist es plausibel, dass das Citrat die Nanopartikel stabilisiert.^[196]

Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse, die Abbildung 85 das Ergebnis der Thermoanalyse.

Die erweiterte Messunsicherheit gibt allgemein die mit dem Faktor 2 multiplizierte Summe der theoretisch zu erwartenden Fehler an. Darin sind z.B. die Fehler der Einwaage, des Pipettierens oder der Messroutine enthalten. In der Praxis ist dieser Fehler jedoch deutlich geringer. Der relative Fehler ergibt sich aus der erweiterten Messunsicherheit und dem prozentualen Anteil des jeweiligen Elements an der untersuchten Verbindung.

Tabelle 17: Ergebnisse der Elementaranalyse für das reine Trinatriumcitrat-Dihydrat. Der C-, H-, O- und Na-Gehalt wurde analytisch ermittelt.

Element	Citrat _{analytisch} / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	24,76 ± 0,25	1,00	0,25
H	3,08 ± 0,13	4,10	0,13
O	49,54	nicht verfügbar	nicht verfügbar
Na	21,37 ± 2,59	12,14	2,59

Tabelle 18: Vergleich der stöchiometrisch berechneten Zusammensetzung des reinen Trinatriumcitrats und der elementaranalytisch bestimmten Zusammensetzung des reinen Trinatriumcitrat-Dihydrats.

Element	Citrat _{stöchiometrisch} / %	Citrat _{analytisch} / %	Mittelwert aus Citrat _{stöchio-metrisch} und Citrat _{analytisch} / %	Standardabweichung / %
C	27,92	24,76	26,34±1,58	1,58
H	1,95	3,08	2,52±0,56	0,56
O	43,40	49,54	46,47±3,07	3,07
Na	26,72	21,37	24,05±2,67	2,67

Tabelle 19: Ergebnisse der Elementaranalyse für die Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	0,87±0,01	1,00	0,01
H	0,17±0,01	4,10	0,01
O	-	-	-
Na	1,05±0,13	12,14	0,13
Au	95,82±6,70	7,00	6,70

Tabelle 20: Vergleich des stöchiometrisch berechneten und des elementaranalytisch bestimmten Citrat-Anteils auf der Oberfläche der Gold-Nanopartikel.

Element	Citrat-Anteil bezogen auf $\text{Citrat}_{\text{stöchio-}}$ metrisch / %	Citrat-Anteil bezogen auf $\text{Citrat}_{\text{analytisch}}$ / %	Mittelwert aus $\text{Citrat}_{\text{stöchio-}}$ metrisch und $\text{Citrat}_{\text{analytisch}}$ / %	Standardab- weichung / %
C	3,12	3,51	$3,32 \pm 0,19$	0,19
H	8,72	5,52	$7,12 \pm 1,6$	1,6
O	-	-	-	-
Na	3,93	4,92	$4,43 \pm 0,49$	0,49
Au	-	-	-	-

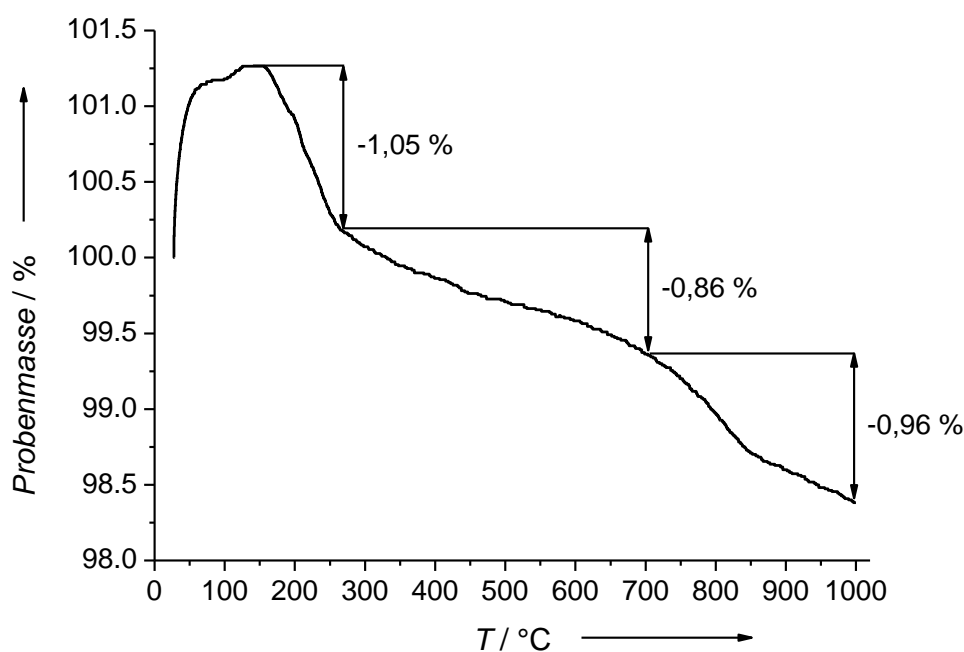
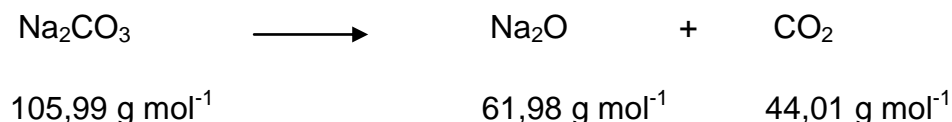


Abbildung 85: Thermogramm Citrat-stabiler Gold-Nanopartikel. Der Goldgehalt in der Dispersion betrug 80 mg. Die Einwaage der Probe betrug 22 mg. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} 2,87 %.

Dem Thermogramm ist ein Masseverlust von 1,91 % bis zu einer Temperatur von etwa 700 °C zu entnehmen. Bis dorthin werden sich die auf den Gold-Nanopartikeln

befindlichen Verbindungen zu Wasser und Kohlenstoffdioxid umgesetzt haben. Der weitere Masseverlust von 0,96 % bis 1000 °C kann damit erklärt werden, dass durch die Decarboxylierung entstandenes CO₂ mit den Natrium-Ionen und dem Sauerstoff zunächst zu Na₂CO₃ reagiert. Die Thermoanalyse erfolgte unter Sauerstoff-atmosphäre. Das Natriumcarbonat zersetzt sich anschließend langsam gemäß:



Der Massenanteil des CO₂ lässt sich aus dem elementaranalytisch bestimmten Natrium-Anteil in der Probe wie folgt berechnen:

$$w_{exp}(\text{CO}_2) = w_{exp}(\text{Na}) \cdot \frac{M(\text{CO}_2)}{2 \cdot M(\text{Na})} = 1,05 \% \cdot \frac{44,01 \text{ g mol}^{-1}}{45,98 \text{ g mol}^{-1}} =$$

$$1,00 \pm 0,13 \% \quad (19)$$

Der Sauerstoffgehalt ergibt sich aus der Differenz der elementaranalytisch ermittelten Massenanteile der in der Probe enthaltenen Elemente C, H, Na und Au und dem Maximalwert von 100 %. Der Sauerstoffgehalt beträgt 2,09 %. Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:^[197]

$$\Delta y = \sqrt{\sum_{i=1}^k (\Delta x_i)^2} = \sqrt{0,01^2 + 0,01^2 + 0,13^2 + 6,70^2} \% =$$

$$6,70 \% \quad (20)$$

Somit ergibt sich für den Sauerstoffgehalt ein Wert von 2,09 ± 6,70 %. Der sehr große Fehler resultiert aus dem relativen Fehler des Gold-Anteils. Aufgrund des großen Fehlers ist der Wert für den Sauerstoffanteil nicht weiter verwendbar. Durch den Kohlenstoff-Anteil der Gold-Nanopartikel-Probe, der mittels Elementaranalyse ermittelt wurde, kann der Citrat-Anteil berechnet werden. Dieser beträgt entsprech-

end $3,12 \pm 0,01$ %. Der relative Fehler ergibt sich aus dem relativen Fehler des elementaranalytisch bestimmten Kohlenstoff-Anteils.

Aus den elementaranalytischen Daten kann die Stöchiometrie des Stabilisators der Nanopartikel bestimmt werden. Für die Elemente C, H und Na ergeben sich folgende molare Verhältnisse:

$$\begin{aligned} \text{C: } \frac{0,87}{12,011} &= 0,072 & \text{H: } \frac{0,17}{1,00} &= 0,17 \\ \text{Na: } \frac{1,05}{22,99} &= 0,046 \end{aligned}$$

Es ergibt sich folgendes stöchiometrische Verhältnis:

$$\text{C : H : Na} = 6 \pm 0,01 : 14,17 \pm 0,85 : 3,83 \pm 0,48$$

Das Verhältnis entspricht nicht dem des reinen Trinatriumcitrats ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$) oder dem des Trinatriumcitrats-Dihydrats ($\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_9\text{Na}_3$). Ferner ist auch eine Anwesenheit der Zersetzungsprodukte Natriumacetat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$) und Natriumketoglutarat ($\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_5\text{Na}_2$) auf der Oberfläche denkbar.^[196] Das bei der Zersetzung des gebildeten Natriumcarbonats entstehende Na_2O ist auch nicht gänzlich auszuschließen. Der zu hohe Wasserstoff-Anteil könnte möglicherweise vom Wasser stammen, das mittels Gefriertrocknung nicht entfernt worden ist. Durch den nicht zu verwendenden Sauerstoff-Anteil der Probe ist diese Vermutung nicht zu verifizieren. Das Ergebnis der Thermoanalyse bestätigt das Ergebnis der Elementaranalyse. Der Citrat-Anteil an den Gold-Nanopartikeln beträgt etwa 3 %, unter der Annahme, dass das in der Thermowaage gebildete Natriumcarbonat auf den Nanopartikeln zurückbleibt.

5.4.2. Untersuchung PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel

PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel wurden auch mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie untersucht, um den organischen Anteil dieser Nanopartikel zu ermitteln. Zusätzlich soll der Anteil des PVP und des Citrats auf der Oberfläche der Nanopartikel bestimmt werden. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse, Abbildung 86 das Ergebnis der Thermoanalyse.

Tabelle 21: Ergebnisse der Elementaranalyse für das reine PVP.

Element	PVP _{analytisch} / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	57,03±0,57	1,00	0,57
H	7,66±0,31	4,10	0,31
O	18,02	nicht verfügbar	nicht verfügbar
N	11,17±0,43	3,84	0,43

Tabelle 22: Vergleich der stöchiometrisch berechneten und der elementaranalytisch bestimmten Zusammensetzung des reinen PVP.

Element	PVP _{stöchiometrisch} / %	PVP _{analytisch} / %	Mittelwert aus PVP _{stöchio-metrisch} und PVP _{analytisch} / %	Standardabweichung / %
C	64,86	57,03	60,95±3,91	3,91
H	8,16	7,66	7,91±0,25	0,25
O	14,40	18,02	16,21±1,81	1,81
N	12,67	11,17	11,92±0,75	0,75

Tabelle 23: Ergebnisse der Elementaranalyse für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1}).

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	$3,56 \pm 0,04$	1,00	0,04
H	$0,46 \pm 0,02$	4,10	0,02
O	-	-	-
N	$0,68 \pm 0,03$	3,84	0,03
Na	$0,51 \pm 0,06$	12,14	0,06
Au	$93,24 \pm 6,53$	7,00	6,53

Tabelle 24: Elementaranalytisch bestimmter PVP-Anteil auf der Oberfläche der Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1}).

Element	PVP-Anteil bezogen auf $\text{PVP}_{\text{analytisch}} / \%$	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	$6,24 \pm 0,06$	1,00	0,06
H	$6,01 \pm 0,25$	4,10	0,25
O	-	-	-
N	$6,09 \pm 0,23$	3,84	0,23
Na	-	-	-
Au	-	-	-

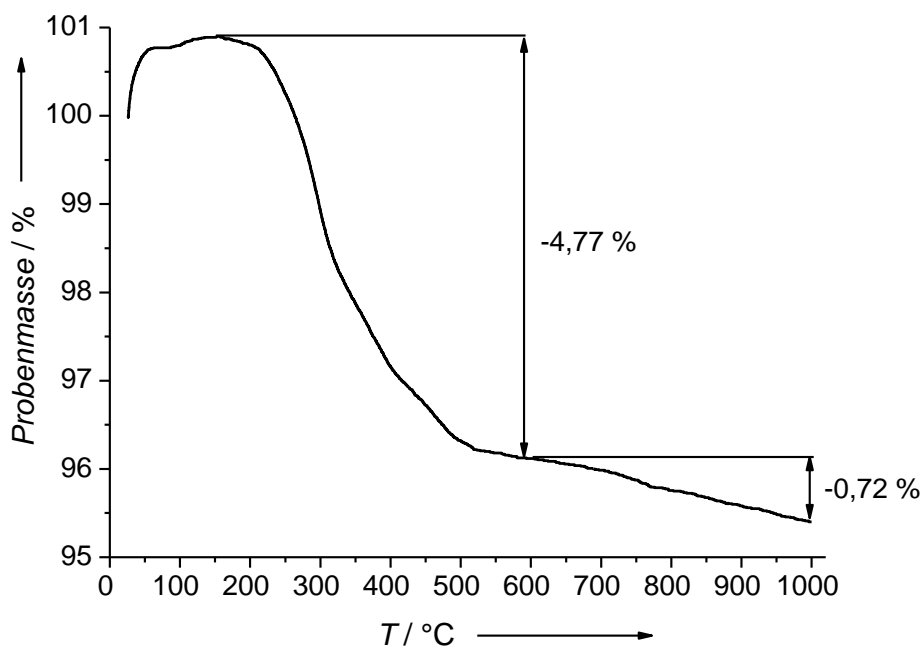


Abbildung 86: Thermogramm PVP-stabilisierter Gold-Nanopartikel. Die Konzentration des der Dispersion zugefügten PVP betrug 128 mg L^{-1} , der Goldgehalt in der Dispersion betrug 80 mg und die Einwaage der Probe betrug $25,4 \text{ mg}$. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} $5,49 \%$.

Der organische Massenanteil der Probe lässt sich theoretisch durch die elementaranalytischen Daten wie folgt ermitteln:

$$w(\text{organische Hülle}) = 100 \% - w(\text{Au}) = (100 - 93,24) \% = 6,76 \% \quad (21)$$

Durch den sehr großen Fehler bei der Bestimmung des Goldgehalts von $6,53 \%$ ist dieser Lösungsweg aber nicht anwendbar.

Der Sauerstoffgehalt ergibt sich analog aus der Differenz der elementaranalytisch ermittelten Massenanteile der in der Probe enthaltenen Elemente C, H, N, Na und Au und dem Maximalwert von 100% . Es gilt:

$$w(\text{O}) = (100 - 3,56 - 0,46 - 0,68 - 0,51 - 93,24) \% = 1,55 \%$$

Der relative Fehler berechnet sich wie folgt:

$$\Delta y = \sqrt{\sum_{i=1}^k (\Delta x_i)^2} = \sqrt{0,04^2 + 0,02^2 + 0,03^2 + 0,06^2 + 6,53^2} \% = 6,53 \%$$

Der Sauerstoffgehalt ist mit $1,55 \pm 6,53 \%$ zu fehlerbehaftet, so dass diese Daten nicht verwendet werden können.

Der PVP-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Stickstoff-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss der Quotient aus dem Stickstoffanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen PVP gebildet werden. Es gilt:

$$w(PVP) = \frac{0,68}{11,17} \cdot 100 \% = 6,09 \% \quad (22)$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:^[197]

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,03}{0,68} \right)^2 + \left(\frac{0,43}{11,17} \right)^2} = 0,06 \quad (23)$$

$$\Delta y = 6,09 \% \cdot 0,06 = 0,37 \%$$

Der PVP-Anteil beträgt somit $6,09 \pm 0,37 \%$.

Aus dem PVP-Anteil lässt sich der Kohlenstoff-Anteil des PVP bestimmen:

$$(6,09 \pm 0,37 \cdot 57,03 \pm 0,57) \% = 3,47 \pm 0,21 \% \text{ Kohlenstoff}$$

Der Kohlenstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $3,56 \pm 0,04 \%$ und resultiert somit nahezu ausschließlich vom PVP. Somit hat ein nahezu quantitativer Austausch des Citrats oder dessen Abbauprodukte gegen das PVP stattgefunden.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 600°C einen Masseverlust von $4,77 \%$. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von $0,72 \%$ bis 1000°C resultiert vermutlich

wiederum aus der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats. Die Ergebnisse sind ein Hinweis darauf, dass das PVP das Citrat oder dessen Zersetzungsprodukte quantitativ von der Oberfläche der Gold-Nanopartikel verdrängt hat.

Analog wurden Gold-Nanopartikel untersucht, die durch die Zugabe von 66 mg L^{-1} PVP stabilisiert wurden. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse, die Abbildung 87 das Ergebnis der Thermoanalyse.

Tabelle 25: Ergebnisse der Elementaranalyse für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (66 mg L^{-1} PVP).

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	$2,23 \pm 0,02$	1,00	0,02
H	$0,205 \pm 0,01$	4,10	0,01
O	-	-	-
N	$0,44 \pm 0,02$	3,84	0,02
Na	$0,18 \pm 0,02$	12,14	0,02
Au	$93,40 \pm 6,54$	7,00	6,54

Tabelle 26: Elementaranalytisch bestimmter PVP-Anteil auf der Oberfläche der Gold-Nanopartikel (66 mg L^{-1} PVP).

Element	PVP-Anteil bezogen auf $\text{PVP}_{\text{analytisch}} / \%$	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	$3,90 \pm 0,04$	1,00	0,04
H	$2,68 \pm 0,11$	4,10	0,11
O	-	-	-
N	$3,94 \pm 0,15$	3,84	0,15
Na	-	-	-
Au	-	-	-

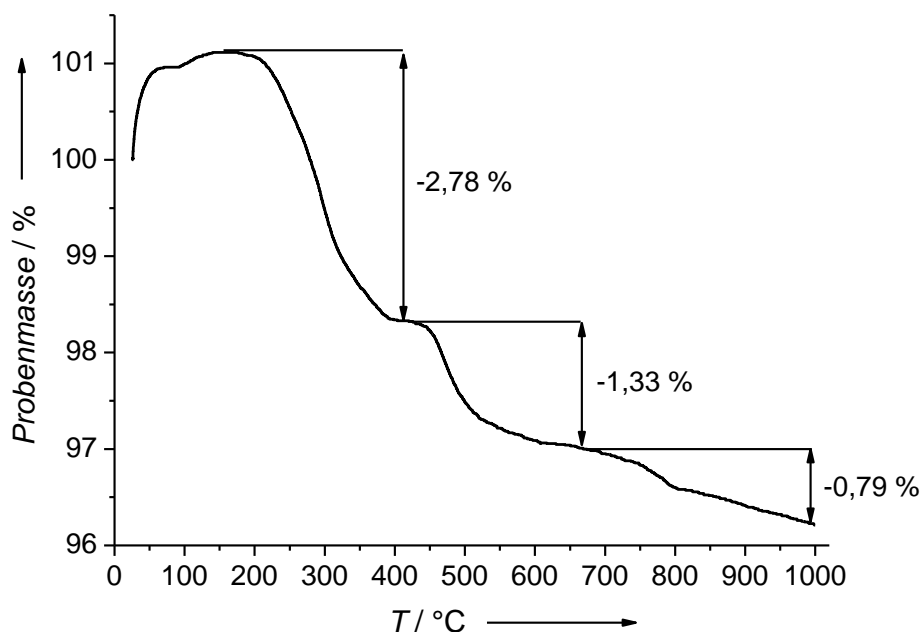


Abbildung 87: Thermogramm PVP-stablisierter Gold-Nanopartikel. Die Konzentration des der Dispersion zugefügten PVP betrug 66 mg L^{-1} , der Goldgehalt in der Dispersion betrug 80 mg und die Einwaage der Probe betrug $24,8 \text{ mg}$. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} $4,9 \%$.

Der PVP-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Stickstoff-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss wiederum der Quotient aus dem Stickstoffanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen PVP gebildet werden. Es gilt:

$$w(PVP) = \frac{0,44}{11,17} \cdot 100 \% = 3,94 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,02}{0,44} \right)^2 + \left(\frac{0,43}{11,17} \right)^2} = 0,06$$

$$\Delta y = 3,94 \% \cdot 0,06 = 0,23 \%$$

Der PVP-Anteil beträgt somit $3,94 \pm 0,23 \%$.

Aus dem PVP-Anteil lässt sich der Kohlenstoff-Anteil des PVP bestimmen:

$$(3,94 \pm 0,23 \cdot 57,03 \pm 0,57) \% = 2,25 \pm 0,13 \% \quad \text{Kohlenstoff}$$

Der Kohlenstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $2,23 \pm 0,23 \%$ und resultiert somit ausschließlich vom PVP. Es hat ein quantitativer Austausch des Citrats oder dessen Abbauprodukte gegen das PVP stattgefunden.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 670°C einen Masseverlust von $4,11 \%$. Das entspricht dem Anteil der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von $0,79 \%$ bis 1000°C resultiert vermutlich wiederum aus der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats.

Es wurden auch Gold-Nanopartikel untersucht, die durch die Zugabe von 33 mg L^{-1} PVP stabilisiert wurden. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse, die Abbildung 88 das Ergebnis der Thermoanalyse.

Tabelle 27: Ergebnisse der Elementaranalyse für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (33 mg L^{-1} PVP).

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	$2,51 \pm 0,03$	1,00	0,03
H	$0,27 \pm 0,01$	4,10	0,01
O	-	-	-
N	$0,50 \pm 0,02$	3,84	0,02
Na	$0,17 \pm 0,02$	12,14	0,02
Au	$92,47 \pm 6,47$	7,00	6,47

Tabelle 28: Elementaranalytisch bestimmter PVP-Anteil auf der Oberfläche der Gold-Nanopartikel (33 mg L^{-1} PVP).

Element	PVP-Anteil bezogen auf $\text{PVP}_{\text{analytisch}} / \%$	Erweiterte Messun- sicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	$4,39 \pm 0,04$	1,00	0,04
H	$3,46 \pm 0,14$	4,10	0,14
O	-	-	-
N	$4,48 \pm 0,17$	3,84	0,17
Na	-	-	-
Au	-	-	-

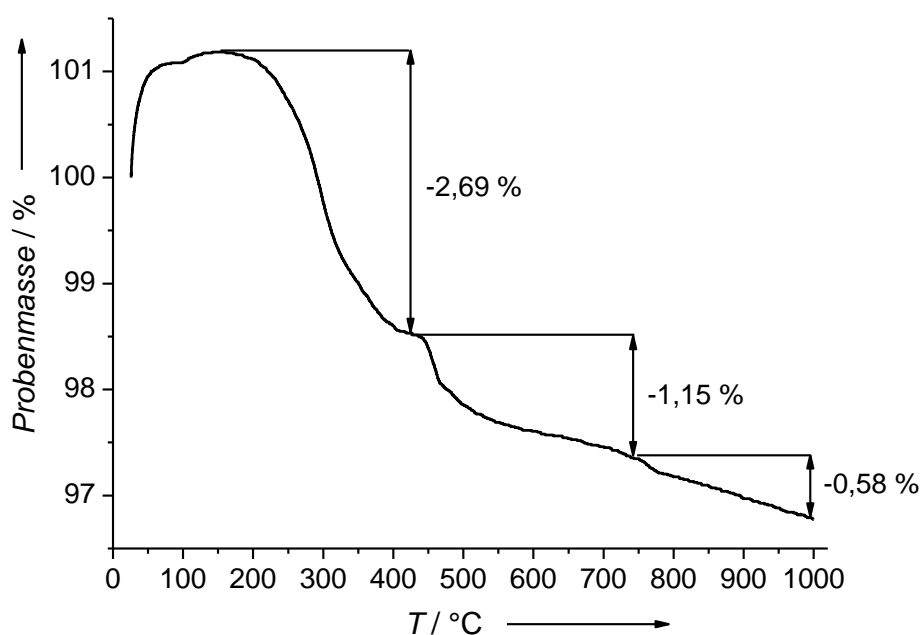


Abbildung 88: Thermogramm PVP-stablisierter Gold-Nanopartikel. Die Konzentration des der Dispersion zugefügten PVP betrug 33 mg L^{-1} , der Goldgehalt in der Dispersion betrug 80 mg und die die Einwaage der Probe betrug $23,3 \text{ mg}$. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} $4,42 \%$.

Der PVP-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Stickstoff-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss wiederum der Quotient aus dem Stickstoffanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen PVP gebildet werden. Es gilt:

$$w(PVP) = \frac{0,50}{11,17} \cdot 100 \% = 4,48 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,02}{0,50} \right)^2 + \left(\frac{0,43}{11,17} \right)^2} = 0,055$$

$$\Delta y = 4,48 \% \cdot 0,055 = 0,25 \%$$

Der PVP-Anteil beträgt somit $4,48 \pm 0,25 \%$.

Aus dem PVP-Anteil lässt sich wiederum der Kohlenstoff-Anteil des PVP bestimmen:

$$(4,48 \pm 0,25 \cdot 57,03 \pm 0,57) \% = 2,55 \pm 0,14 \% \quad \text{Kohlenstoff}$$

Der Kohlenstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $2,51 \pm 0,03 \%$ und resultiert somit ausschließlich vom PVP. Wiederum hat ein quantitativer Austausch des Citrats oder dessen Abbauprodukte gegen das PVP stattgefunden.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 740°C einen Masseverlust von $3,84 \%$. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von $0,58 \%$ bis 1000°C resultiert vermutlich wiederum aus der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats.

5.4.3. Untersuchung TPPTS-stabilsierter Gold-Nanopartikel

TPPTS-stabilisierte Gold-Nanopartikel wurden auch mittels Elementaranalyse und Thermogravimetrie untersucht, um den organischen Anteil dieser Nanopartikel zu ermitteln. Zusätzlich sollte der Anteil des TPPTS und des Citrats auf der Oberfläche der Nanopartikel bestimmt werden. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse, die Abbildung 89 das Ergebnis der Thermoanalyse.

Tabelle 29: Ergebnisse der Elementaranalyse für das reine TPPTS.

Element	TPPTS _{analytisch} / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	36,27±0,36	1,00	0,36
H	2,48±0,10	4,10	0,10
O	28,08	nicht verfügbar	nicht verfügbar
S	16,06±0,40	2,50	0,40
P	-	-	-
Na	17,27±2,10	12,14	2,10

Tabelle 30: Vergleich der stöchiometrisch berechneten und elementaranalytisch bestimmten Zusammensetzung des reinen TPPTS.

Element	TPPTS _{stöchiometrisch} / %	TPPTS _{analytisch} / %	Mittelwert aus TPPTS _{stöchiometrisch} und TPPTS _{analytisch} / %	Standardabweichung / %
C	38,03	36,27	37,15±0,88	0,88
H	2,13	2,48	2,31±0,17	0,17
O	25,33	28,08	26,71±1,37	1,37
S	16,92	16,06	16,49±0,43	0,43
P	5,45	-	-	-
Na	12,13	17,27	14,70±2,57	2,57

Der Unterschied zwischen der stöchiometrisch berechneten und der elementaranalytisch bestimmten Zusammensetzung des reinen TPPTS resultiert aus der Tatsache, dass das reine TPPTS laut Herstellerangaben zu 10 % bis 15 % aus dem Phosphanoxid besteht.

Tabelle 31: Ergebnisse der Elementaranalyse für die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	1,11±0,01	1,00	0,01
H	0,13±0,01	4,10	0,01
O	-	-	-
S	0,23±0,01	2,50	0,01
P	-	-	-
Na	0,48±0,06	12,14	0,06
Au	95,88±6,71	7,00	6,71

Tabelle 32: Darstellung des elementaranalytisch bestimmten TPPTS-Anteils auf der Oberfläche der Gold-Nanopartikel.

Element	TPPTS-Anteil bezogen auf TPPTS _{analytisch} / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	3,06±0,03	1,00	0,03
H	5,24±0,21	4,10	0,21
O	-	-	-
S	1,43±0,04	2,50	0,04
P	-	-	-
Na	2,78±0,34	12,14	0,34
Au	-	-	-

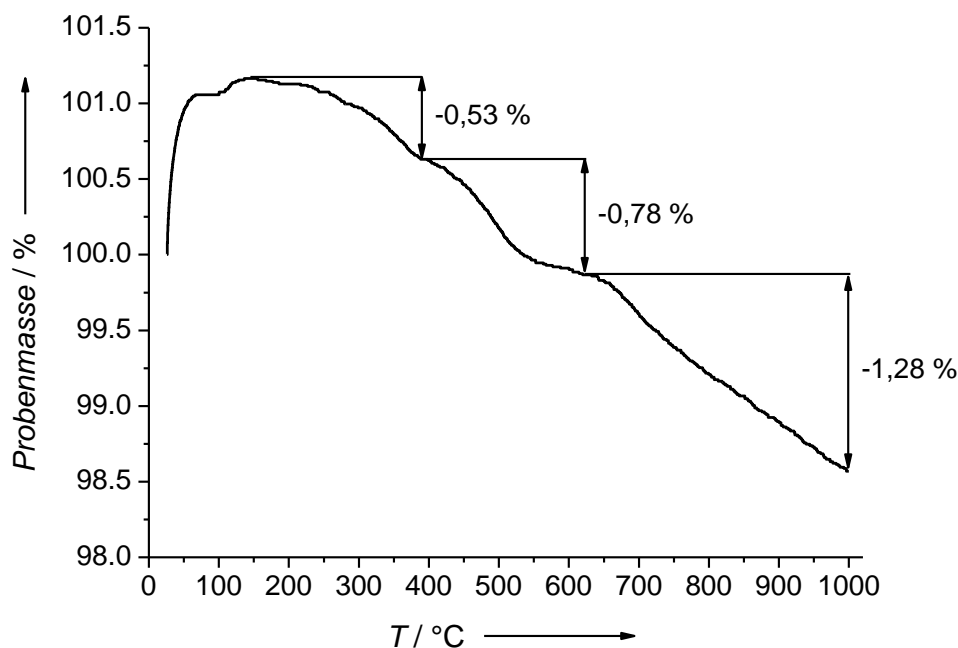


Abbildung 89: Thermogramm TPPTS-stablisierter Gold-Nanopartikel. Die Masse des der Dispersion zugefügten TPPTS betrug 80 mg, Der Goldgehalt in der Dispersion betrug 80 mg und die Einwaage der Probe betrug 22,5 mg. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} 2,59 %.

Der TPPTS-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Schwefel-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss der Quotient aus dem Schwefelanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen TPPTS gebildet werden. Es gilt:

$$w(TPPTS) = \frac{0,23}{16,06} \cdot 100 \% = 1,43 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,01}{0,23} \right)^2 + \left(\frac{0,40}{16,06} \right)^2} = 0,05$$

$$\Delta y = 1,43 \% \cdot 0,05 = 0,07 \%$$

Der TPPTS-Anteil beträgt somit $1,43 \pm 0,07$ %.

Aus dem TPPTS-Anteil lässt sich wiederum der Kohlenstoff-Anteil des TPPTS bestimmen:

$$(1,43 \pm 0,07 \cdot 36,27 \pm 0,36) \% = 0,52 \pm 0,03 \% \quad \text{Kohlenstoff}$$

Der Kohlenstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $1,11 \pm 0,01$ %. Aus der Differenz ergibt sich der Kohlenstoff-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen Citrats.

$$(1,11 \pm 0,01 - 0,52 \pm 0,03) \% = 0,59 \pm 0,03 \%$$

Der stöchiometrisch berechnete Kohlenstoff-Anteil des Trinatriumcitrats beträgt 27,91 %. Der folgende Zusammenhang liefert den prozentualen Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen Citrats.

$$\frac{0,59 \pm 0,03}{0,279} = 2,11 \pm 0,11 \%$$

Es hat somit kein quantitativer Austausch von Citrat oder dessen Abbauprodukten gegen TPPTS stattgefunden.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 630 °C einen Masseverlust von 1,31 %. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von 1,28 % bis 1000 °C resultiert vermutlich wiederum aus der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats. Die Ergebnisse sind ein weiterer Hinweis darauf, dass das TPPTS das Citrat oder dessen Zersetzungsprodukte ebenfalls nicht quantitativ von der Oberfläche der Gold-Nanopartikel verdrängt. *Schmid et al.* beschreiben hingegen den Austausch des Citrats durch das monosulfonierte Phosphan.^[96] Allerdings kann das Natriumcarbonat auch durch die Zersetzung des Phosphans generiert worden sein. Das TPPTS verfügt über Natrium als Gegenionen zu den Sulfonsäure-Gruppen. Das Carbonat bildet sich durch die Reaktion des bei der Zersetzung entstehenden CO₂ mit dem Sauerstoff in der Thermowaage. Die Sulfonsäure-Gruppen können auch mit den Natrium-Ionen das Na₂SO₄ ausbilden, was ebenfalls auf den Nanopartikeln zurückbliebe und den geringeren Masseverlust in der Thermowaage erklären würde.

5.4.4. Untersuchung der Adsorption von BSA auf PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln

Zugabe zu einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-%

Das Ziel bestand darin, den Grad der Adsorption des BSA auf der Oberfläche der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) zu ermitteln. Aus den Ergebnissen der Elementaranalyse ist es möglich, die Anzahl der Lagen des BSA auf der Oberfläche der Nanopartikel abzuschätzen. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse des reinen BSA, der Probe nach der Adsorption des BSA sowie die Daten bezogen auf die organischen Bestandteile der Probe.

Tabelle 33: Ergebnisse der Elementaranalyse für das reine BSA.

Element	BSA _{analytisch} / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	50,32±0,50	1,00	0,50
H	7,15±0,29	4,10	0,29
N	15,01±0,58	3,84	0,58
S	1,46±0,04	2,50	0,04
O	24,39	nicht verfügbar	nicht verfügbar
Na	1,05±0,13	12,14	0,13

Tabelle 34: Ergebnisse der Elementaranalyse für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) in einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-%.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	9,51±0,10	1,00	0,10
H	1,30±0,05	4,10	0,05
N	2,23±0,09	3,84	0,09
S	0,14±0,004	2,50	0,004
Na	0,21±0,03	12,14	0,03
Au	79,84±5,59	7,00	5,59

Da das BSA durch die Aminosäure Cystein über Schwefelgruppen verfügt, ist der Anteil des BSA an der gesamten organischen Masse aus dem Schwefelgehalt zu berechnen. Hierzu muss der Quotient aus dem Schwefelanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen BSA gebildet werden. Es gilt:

$$w(BSA) = \frac{0,14}{1,46} \cdot 100 \% = 9,59 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i}\right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,004}{0,14}\right)^2 + \left(\frac{0,04}{1,46}\right)^2} = 0,04$$

$$\Delta y = 9,59 \% \cdot 0,04 = 0,38 \%$$

Der BSA-Anteil beträgt somit $9,59 \pm 0,38 \%$.

Aus dem BSA-Anteil lässt sich wiederum der Stickstoff-Anteil in der Probe berechnen:

$$(9,59 \pm 0,38 \cdot 15,01 \pm 0,58) \% = 1,44 \pm 0,08 \% \quad \text{Stickstoff}$$

Der Stickstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $2,23 \pm 0,09 \%$. Aus der Differenz ergibt sich der Stickstoff-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen PVP.

$$(2,23 \pm 0,09 - 1,44 \pm 0,08) \% = 0,79 \pm 0,12 \%$$

Der elementaranalytisch ermittelte Stickstoff-Anteil des reinen PVP beträgt $11,12 \% \pm 0,43$. Der folgende Zusammenhang liefert den prozentualen Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen PVP.

$$\frac{0,79 \pm 0,12}{0,112 \pm 0,004} = 7,05 \pm 1,10 \%$$

Es hat somit kein quantitativer Austausch des PVP gegen das BSA stattgefunden. Da zuvor schon gezeigt werden konnte, dass das Citrat oder dessen

Zersetzungsprodukte quantitativ gegen das PVP ausgetauscht wurde, wird auf eine Berechnung des zurückgebliebenen Citrats verzichtet.

Ausgehend von einem Radius des Goldkerns der Nanopartikel von $r = 6,5 \text{ nm}$ lässt sich das Volumen eines kugelförmigen Nanopartikels ermitteln.

$$V_{\text{eines Nanopartikels}} = \frac{4}{3} \pi r^3 = 1,15 \cdot 10^3 \text{ nm}^3 = 1,15 \cdot 10^{-24} \text{ m}^3 \quad (24)$$

Für die Masse m eines Nanopartikels gilt:

$$\begin{aligned} m_{\text{eines Nanopartikels}} &= V_{\text{eines Nanopartikels}} \cdot \rho_{\text{Au}} \\ &= 1,15 \cdot 10^{-24} \text{ m}^3 \cdot 19320 \text{ kg m}^{-3} = 2,22 \cdot 10^{-20} \text{ kg} \end{aligned} \quad (25)$$

Diese Masse entspricht den 79,84 Gew.-% des reinen Goldes. Die Masse für das Nanopartikel inklusive der stabilisierenden Verbindungen (PVP, BSA) beträgt $2,78 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$ (entsprechend 100 Gew.-%).

Mit $w(\text{BSA}) = 9,59 \%$ ergibt sich die Masse des BSA auf einem Nanopartikel:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 2,66 \cdot 10^{-21} \text{ kg}$$

Mit der molaren Masse $M(\text{BSA})$ von $67000 \text{ g mol}^{-1} = 67 \text{ kg mol}^{-1}$ und der Avogadrozahl ergibt sich die Masse eines BSA-Moleküls:

$$m_{\text{BSA-Molekül}} = \frac{67 \text{ kg mol}^{-1}}{6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}} = 1,11 \cdot 10^{-22} \text{ kg} \quad (26)$$

Die Anzahl der auf einem Nanopartikel adsorbierten BSA-Moleküle ergibt sich aus dem Quotient der Gesamtmasse des BSA auf einem Nanopartikel und der Masse eines BSA-Moleküls:

$$\text{BSA-Moleküle pro Nanopartikel} = \frac{2,66 \cdot 10^{-21} \text{ kg}}{1,11 \cdot 10^{-22} \text{ kg}} = 23,96 \pm 1,93 \quad (27)$$

Die Oberfläche eines Gold-Nanopartikels mit dem Radius $r = 6,5 \text{ nm}$ errechnet sich wie folgt:

$$O_{\text{eines Nanopartikels}} = 4\pi r^2 = 531 \text{ nm}^2 \quad (28)$$

Der Quotient aus der Oberfläche eines Gold-Nanopartikels und der Anzahl der BSA-Moleküle pro Nanopartikel führt zum Oberflächenbedarf eines einzigen BSA-Moleküls bei Annahme einer Monolage:

$$A_{BSA-Molekül} = \frac{531 \text{ nm}^2}{23,96} = \mathbf{22,16 \text{ nm}^2} \quad (29)$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich aus dem Fehler für die Bestimmung des Gold-Anteils, sowie des Schwefel-Anteils in der Gold-Probe und im reinen BSA:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{5,59}{79,84} \right)^2 + \left(\frac{0,004}{0,14} \right)^2 + \left(\frac{0,04}{1,46} \right)^2} = 0,08$$

$$\Delta y = 22,16 \text{ nm}^2 \cdot 0,08 = 1,8 \text{ nm}^2$$

Die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche beträgt somit $22 \pm 2 \text{ nm}^2$.

In der Literatur kann für das reine Humanserum Albumin (HSA) eine Dreieckstruktur gefunden werden. Die Struktur wurde mittels Kristallstrukturanalyse^[198] ermittelt und wird auch für nahezu pH-neutrale wässrige BSA-Lösungen angenommen.^[199] Die Längen der Kanten des gleichseitigen Dreiecks betragen jeweils 8,4 nm, die Dicke des Proteins 3,15 nm.^[200, 201] Eine Änderung der Tertiärstruktur durch die Adsorption des Proteins auf der Gold-Oberfläche wird hierbei vernachlässigt. Diese Änderung der Tertiärstruktur konnte allerdings von einigen Arbeitsgruppen nachgewiesen werden.^[202, 203] Somit kann mit folgender Gleichung die Dreiecksfläche auf einem BSA-Molekül berechnet werden.

$$A_{BSA} = \frac{1}{2} \cdot a \cdot b \cdot \sin \gamma = \frac{1}{2} \cdot 8,4 \text{ nm} \cdot 8,4 \text{ nm} \cdot \sin 60^\circ = \mathbf{30,6 \text{ nm}^2} \quad (30)$$

Das ist das Ergebnis für die Dreiecksfläche auf einem BSA-Molekül. Mit dieser Fläche kann das Protein adsorbieren, was auch *side-on*-Mechanismus genannt wird. Eine weitere Möglichkeit besteht über einen sogenannten *end-on*-Mechanismus, einer Adsorption über die Rechteckfläche, die durch die Dicke und die Kantenlänge des Proteins gebildet wird.

$$A_{BSA} = a \cdot b = 3,15 \text{ nm} \cdot 8,4 \text{ nm} = \mathbf{26,46 \text{ nm}^2} \quad (31)$$

Näherungsweise stimmen beide Werte mit dem Wert von $22 \pm 2 \text{ nm}^2$ überein, was auf eine BSA-Monolage auf den Gold-Nanopartikeln schließen lässt. Das wird auch durch Abbildung 90 bestätigt. Diese zeigt die Ergebnisse der Dynamischen Lichtstreuung für PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel vor und nach Zugabe zu der 1 Gew.-%igen BSA-Lösung. Der Durchmesser der Nanopartikel betrug vor der Zugabe zu der BSA-Lösung 49 nm und danach 53 nm. Die Differenz von 4 nm entspricht nicht ganz den erwarteten 6,3 nm, die bei einem *side-on*-Mechanismus zu erwarten wären.

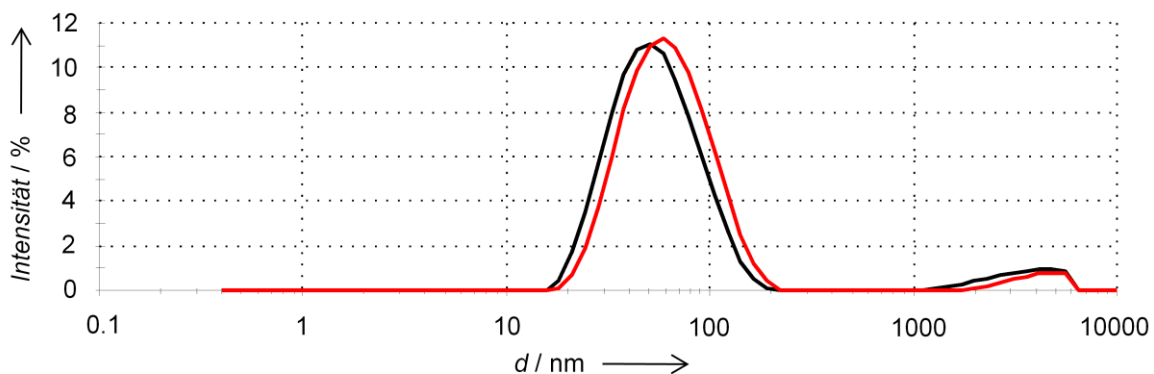


Abbildung 90: Ergebnis der Dynamischen Lichtstreuung für PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) vor (schwarz) und nach (rot) Zugabe zu einer 1 Gew.-%igen BSA-Lösung.

Ferner lässt sich auch die auf den Nanopartikeln adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche berechnen. Die Masse des BSA auf einem Nanopartikel beträgt:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 2,66 \cdot 10^{-21} \text{ kg} = 2,66 \cdot 10^{-9} \text{ ng}$$

Die Oberfläche eines Nanopartikels beträgt 531 nm^2 .

Es folgt:

$$\frac{2,66 \cdot 10^{-9} \text{ ng}}{5,31 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2} = \mathbf{501 \frac{\text{ng}}{\text{cm}^2}}$$

Der Gesamtfehler resultiert aus den Einzelfehlern für die Gold- und BSA-Bestimmung. Der Wert für die adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche beträgt somit $501 \pm 40 \text{ ng cm}^{-2}$. Verglichen mit der in der Literatur^[204] bestimmten BSA-Menge von 441 ng cm^{-2} für eine Monolage kann annähernd von einer Monolage ausgegangen werden.

Arbeiten anderer Arbeitsgruppen zeigten, dass Humanserum Albumin (HSA) ebenfalls Monolagen auf FePt, CdSe und ZnS ausbildet. Diese Nanopartikel waren ebenfalls mit einem Polymer stabilisiert, welches durch vorhandene Carboxylgruppen eine negative Oberflächenladung aufwies.^[200] Weitere Studien berichten über die geringe Affinität zur Ausbildung von BSA- oder HSA-Monolagen auf Nanopartikeln.^[205-209] Müller *et al.* untersuchten die Adsorption von BSA auf β -Tricalciumphosphat und Hydroxylapatit. Im Falle des β -Tricalciumphosphats bildete sich eine Monolage des Proteins (800 ng cm^{-2}) aus, beim Hydroxylapatit jedoch nur eine Halblage.^[210] Rezwan *et al.* beschreiben die BSA-Adsorption auf der Oberfläche von Al_2O_3 -Nanopartikeln. Die Adsorptionsuntersuchungen erfolgten über die Bestimmung des Zetapotentials und über die Änderung des isoelektrischen Punktes als Funktion der Masse. Die Bestimmung der Menge des adsorbierten BSA erfolgte mittels UV-Vis-Spektroskopie. Die maximal adsorbierte Menge des Proteins beträgt 300 ng cm^{-2} . Nach anfänglicher Ausbildung einer Protein-Monolage wird die Bildung von Protein-Dimeren beschrieben.^[211] Die Arbeitsgruppe untersuchte neben Al_2O_3 -Nanopartikeln auch SiO_2 -, TiO_2 - und ZrO_2 -Nanopartikel. Sie korrelierten die adsorbierte Proteinmenge ebenfalls mit dem Zetapotential. ZrO_2 stellt ein hydrophobes System dar, die übrigen Materialien hydrophile Systeme. Obwohl die repulsiven Wechselwirkungen im Falle des ZrO_2 den höchsten Wert annehmen, ist dort die BSA-Adsorption maximal. Der Grund liegt in dem hydrophoben Charakter des ZrO_2 und den damit verbundenen van der Waals-Wechselwirkungen, die zu der hohen Proteinadsorption führen. Die berechnete BSA-Menge zur Ausbildung einer Monolage beträgt 441 ng cm^{-2} . ZrO_2 erreicht mit etwa 420 ng cm^{-2} annähernd diesen Wert. Al_2O_3 (300 ng cm^{-2}), TiO_2 (120 ng cm^{-2}) und SiO_2 (120 ng cm^{-2}) liegen deutlich unter diesem Wert.^[204] Rezwan *et al.* untersuchten auch SiO_2 - und AlOOH -beschichtete SiO_2 -Nanopartikel. Sie beschreiben eine elektrostatische Triebkraft, die pH-abhängig und für die BSA-Adsorption verantwortlich ist. Auf den reinen SiO_2 -Nanopartikeln adsorbierte praktisch kein Protein, wohingegen die BSA-Adsorption auf den AlOOH -

beschichteten Silica-Partikeln nahezu vollständig (100 %, entsprechend 330 ng cm^{-2}) war.^[212]

Zu berücksichtigen ist, dass die in dieser Arbeit vollzogenen Berechnungen immer unter der vereinfachenden Annahme der Größe des reinen Goldkerns erfolgten. Das ist nicht ganz korrekt, da die stabilisierende Polymer- oder Ligand-Hülle dabei vernachlässigt wird, an der auch eine Proteinadsorption stattfindet. Ein funktionalisierter Gold-Nanopartikel besitzt eine vergrößerte Oberfläche im Vergleich zu einem unfunktionalisierten Nanopartikel. Demnach wird die auf die Flächeneinheit normierte adsorbierte Proteinmasse für den funktionalisierten Nanopartikel geringer ausfallen als für den unfunktionalisierten Nanopartikel. Die beanspruchte Fläche des Proteins auf der Oberfläche des funktionalisierten Nanopartikels wird hingegen größer ausfallen als für einen unfunktionalisierten Nanopartikel.

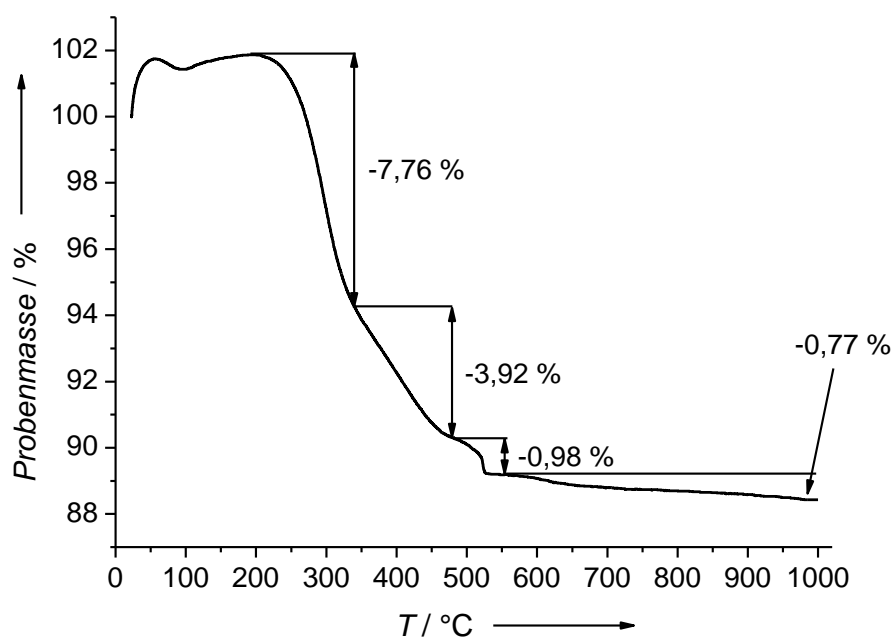


Abbildung 91: Thermogramm PVP-stabilsierter Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) nach Zugabe von 1 Gew.-% BSA. Der Goldgehalt in der Dispersion betrug $61,25 \text{ mg}$. Die Einwaage der Probe betrug $23,5 \text{ mg}$. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} $13,43 \%$.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 550 °C einen Masseverlust von $12,66 \%$. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von $0,77 \%$ bis 1000 °C resultiert vermutlich aus

der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats. Das Natriumcarbonat kann auch durch die Zersetzung des BSA entstanden sein, da dieses neben Kohlenstoff und Sauerstoff über Natrium verfügt. Das erklärt vermutlich auch den zu geringen Masseverlust in der Thermowaage im Vergleich zu den elementaranalytischen Ergebnissen.

Zugabe zu einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,1 Gew.-%

Analog zu der BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-% erfolgt die Ermittlung des Grades der Adsorption des BSA auf der Oberfläche der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse der Probe nach der Adsorption des BSA sowie die Daten bezogen auf die organischen Bestandteile der Probe.

Tabelle 35: Ergebnisse der Elementaranalyse für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) in einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,1 Gew.-%.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	19,18±0,19	1,00	0,19
H	2,53±0,10	4,10	0,10
N	4,94±0,19	3,84	0,19
S	0,70±0,02	2,50	0,02
Na	0,30±0,04	12,14	0,04
Au	59,44±4,16	7,00	4,16

Die Masse von $2,22 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$ entspricht den 59,44 Gew.-% des reinen Goldes. Die Masse für das Nanopartikel inklusive der stabilisierenden Verbindungen (PVP, BSA) beträgt $3,73 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$ (entsprechend 100 Gew.-%).

Der BSA-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Schwefel-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss der Quotient aus dem Schwefelanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen BSA gebildet werden. Es gilt:

$$w(BSA) = \frac{0,70}{1,46} \cdot 100 \% = 47,95 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,02}{0,70} \right)^2 + \left(\frac{0,04}{1,46} \right)^2} = 0,04$$

$$\Delta y = 47,95 \% \cdot 0,04 = 1,90 \%$$

Der BSA-Anteil beträgt somit $48 \pm 2 \%$.

Aus dem BSA-Anteil lässt sich wiederum der Stickstoff-Anteil des BSA bestimmen:

$$(48 \pm 2 \cdot 15,01 \pm 0,58) \% = 7,20 \pm 0,41 \% \quad \text{Stickstoff}$$

Der Stickstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $4,94 \pm 0,13 \%$. Aus der Differenz ergibt sich der Stickstoff-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen PVP.

$$(4,94 \pm 0,13 - 7,20 \pm 0,41) \% = -2,26 \pm 0,06 \%$$

Da das mathematische Ergebnis negativ ausfällt, ist eine Aussage bezüglich des PVP-Anteils auf den Gold-Nanopartikeln nicht möglich. Da zuvor schon gezeigt werden konnte, dass das Citrat oder dessen Zersetzungsprodukte nahezu quantitativ gegen das PVP ausgetauscht wurde, wird auf eine Berechnung des zurückgebliebenen Citrats verzichtet.

Mit $w(\text{BSA}) = 47,95 \%$ ergibt sich die Masse des BSA auf einem Nanopartikel:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 1,79 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$$

Auf einem Gold-Nanopartikel adsorbieren 161 ± 13 BSA-Moleküle. Mit einer Oberfläche eines einzelnen Gold-Nanopartikels von 531 nm^2 beträgt die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche **3,3 nm²**.

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich aus dem Fehler für die Bestimmung des Gold-Anteils sowie des Schwefel-Anteils in der Gold-Probe und im reinen BSA:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i}\right)^2} = \sqrt{\left(\frac{4,16}{59,44}\right)^2 + \left(\frac{0,02}{0,70}\right)^2 + \left(\frac{0,04}{1,46}\right)^2} = 0,08$$

$$\Delta y = 3,3 \text{ nm}^2 \cdot 0,08 = 0,27 \text{ nm}^2$$

Die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche beträgt somit $3,3 \pm 0,3 \text{ nm}^2$.

Für eine *side-on*-Adsorption wäre eine Fläche von $30,6 \text{ nm}^2$ zu erwarten gewesen, für eine *end-on*-Adsorption eine Fläche von $26,46 \text{ nm}^2$. Da der für diese Probe erhaltene Wert mit $3,3 \pm 0,3 \text{ nm}^2$ deutlich darunter liegt, kann von keiner BSA-Monolage auf den Nanopartikeln ausgegangen werden.

Es lässt sich auch die auf den Nanopartikeln adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche berechnen. Die Masse des BSA auf einem Nanopartikel beträgt:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 1,79 \cdot 10^{-20} \text{ kg} = 1,79 \cdot 10^{-8} \text{ ng}$$

Die Oberfläche eines Nanopartikels beträgt 531 nm^2 .

Es folgt:

$$\frac{1,79 \cdot 10^{-8} \text{ ng}}{5,31 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2} = \mathbf{3371 \frac{ng}{cm^2}}$$

Der Gesamtfehler resultiert aus den Einzelfehlern für die Gold- und BSA-Bestimmung. Der Wert für die adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche beträgt somit $3371 \pm 275 \text{ ng cm}^{-2}$. Verglichen mit der in der Literatur^[204] angegebenen BSA-Menge von 441 ng cm^{-2} für eine Monolage kann nicht von einer Monolage ausgegangen werden. Es ist näherungsweise eine achtfache Proteinlage anzunehmen.

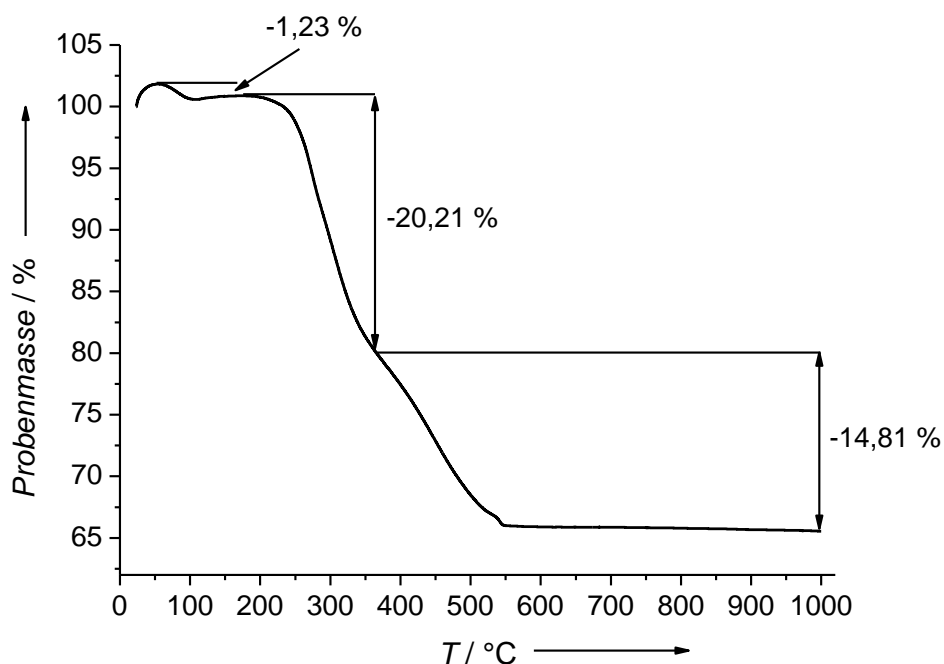


Abbildung 92: Thermogramm PVP-stablisierter Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) nach Zugabe von 0,1 Gew.-% BSA. Der Goldgehalt in der Dispersion betrug 61,25 mg. Die Einwaage der Probe betrug 22,4 mg. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} 36,25 %.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 550 °C einen Masseverlust von 36,25 %. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Ein weiterer Masseverlust bis 1000 °C ist nicht erkennbar. Der zu geringe Masseverlust in der Thermowaage im Vergleich zu den elementaranalytischen Ergebnissen könnte durch sich noch auf den Nanopartikeln befindliches Na_2CO_3 erklärt werden. Das Natriumcarbonat kann auch durch die Zersetzung des BSA entstanden sein, da dieses ebenfalls neben Kohlenstoff und Sauerstoff über Natrium verfügt.

Zugabe zu einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,01 Gew.-%

Analog zu der BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-% erfolgt die Ermittlung des Grades der Adsorption des BSA auf der Oberfläche der PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse der Probe nach der Adsorption des BSA sowie die Daten bezogen auf die organischen Bestandteile der Probe.

Tabelle 36: Ergebnisse der Elementaranalyse für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) in einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,01 Gew.-%.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	$6,94 \pm 0,07$	1,00	0,07
H	$0,85 \pm 0,03$	4,10	0,03
N	$1,50 \pm 0,06$	3,84	0,06
S	$0,10 \pm 0,003$	2,50	0,003
Na	$0,28 \pm 0,03$	12,14	0,03
Au	$87,39 \pm 6,12$	7,00	6,12

Die Masse von $2,22 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$ entspricht den 87,39 Gew.-% des reinen Goldes. Die Masse für das Nanopartikel inklusive der stabilisierenden Verbindungen (Citrat, PVP, BSA) beträgt $2,54 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$ (entsprechend 100 Gew.-%).

Der BSA-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Schwefel-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss der Quotient aus dem Schwefelanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen BSA gebildet werden. Es gilt:

$$w(BSA) = \frac{0,10}{1,46} \cdot 100 \% = 6,85 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,003}{0,10} \right)^2 + \left(\frac{0,04}{1,46} \right)^2} = 0,04$$

$$\Delta y = 6,85 \% \cdot 0,04 = 0,28 \%$$

Der BSA-Anteil beträgt somit $6,9 \pm 0,3 \%$.

Aus dem BSA-Anteil lässt sich wiederum der Stickstoff-Anteil des BSA bestimmen:

$$(6,9 \pm 0,3 \cdot 15,01 \pm 0,58) \% = 1,04 \pm 0,06 \% \quad \text{Stickstoff}$$

Der Stickstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $1,50 \pm 0,06 \%$. Aus der Differenz ergibt sich der Stickstoff-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen PVP.

$$(1,50 \pm 0,06 - 1,04 \pm 0,06) \% = 0,46 \pm 0,08 \%$$

Der elementaranalytisch ermittelte Stickstoff-Anteil des reinen PVP beträgt $11,12 \pm 0,43 \%$. Der folgende Zusammenhang liefert den prozentualen Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen PVP.

$$\frac{0,46 \pm 0,08}{0,112 \pm 0,004} = 4,11 \pm 0,73 \%$$

Es hat somit kein quantitativer Austausch des PVP gegen das BSA stattgefunden. Da zuvor schon gezeigt werden konnte, dass das Citrat oder dessen Zersetzungsprodukte quantitativ gegen das PVP ausgetauscht wurde, wird auf eine Berechnung des zurückgebliebenen Citrats verzichtet.

Mit $w(\text{BSA}) = 6,85 \%$ ergibt sich die Masse des BSA auf einem Nanopartikel:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 1,74 \cdot 10^{-21} \text{ kg}$$

Auf einem Gold-Nanopartikel adsorbieren somit $15,67 \pm 1,27$ BSA-Moleküle. Mit einer Oberfläche eines einzelnen Gold-Nanopartikels von 531 nm^2 beträgt die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche **33,87 nm²**.

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich aus dem Fehler für die Bestimmung des Gold-Anteils sowie des Schwefel-Anteils in der Gold-Probe und im reinen BSA:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{6,12}{87,39} \right)^2 + \left(\frac{0,003}{0,10} \right)^2 + \left(\frac{0,04}{1,46} \right)^2} = 0,08$$

$$\Delta y = 33,87 \text{ nm}^2 \cdot 0,08 = 2,74 \text{ nm}^2$$

Die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche beträgt $34 \pm 3 \text{ nm}^2$.

Für eine *side-on*-Adsorption wäre eine Fläche von $30,6 \text{ nm}^2$ zu erwarten gewesen, für eine *end-on*-Adsorption eine Fläche von $26,46 \text{ nm}^2$. Näherungsweise stimmt der Wert von $34 \pm 3 \text{ nm}^2$ mit beiden Werten überein, was auf eine BSA-Monolage auf den Gold-Nanopartikeln schließen lässt.

Die auf den Nanopartikeln adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche lässt sich auch berechnen. Die Masse des BSA auf einem Nanopartikel beträgt:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 1,74 \cdot 10^{-21} \text{ kg} = 1,74 \cdot 10^{-9} \text{ ng}$$

Die Oberfläche eines Nanopartikels beträgt 531 nm^2 .

Es folgt:

$$\frac{1,74 \cdot 10^{-9} \text{ ng}}{5,31 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2} = 328 \frac{\text{ng}}{\text{cm}^2}$$

Der Gesamtfehler resultiert aus den Einzelfehlern für die Gold- und BSA-Bestimmung. Der Wert für die adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche beträgt somit $328 \pm 27 \text{ ng cm}^{-2}$. Verglichen mit der in der Literatur^[204] bestimmten BSA-Menge von 441 ng cm^{-2} für eine Monolage kann hier näherungsweise von einer Monolage ausgegangen werden.

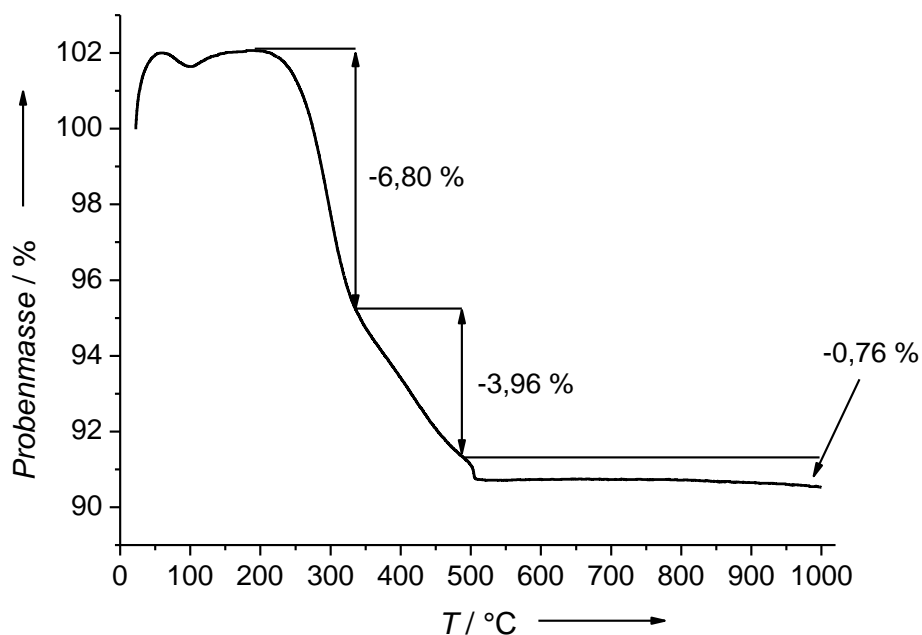


Abbildung 93: Thermogramm PVP-stablisierter Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) nach Zugabe von 0,01 Gew.-% BSA. Der Goldgehalt in der Dispersion betrug 61,25 mg. Die Einwaage der Probe betrug 23 mg. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} 11,52 %.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 490 °C einen Masseverlust von 10,76 %. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von 0,76 % bis 1000 °C resultiert vermutlich wiederum aus der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats. Die Ergebnisse zeigen eine sehr gute Übereinstimmung mit den elementaranalytischen Ergebnissen.

5.4.5. Untersuchung der Adsorption von BSA auf TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln

Zugabe zu einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-%

Das Ziel besteht darin, den Grad der Adsorption des BSA auf der Oberfläche der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel zu ermitteln. Aus den Ergebnissen der Elementaranalyse ist es möglich, die Anzahl der Lagen des BSA auf der Oberfläche der Nanopartikel abzuschätzen. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse des reinen BSA, der Probe nach der Adsorption des BSA sowie die Daten bezogen auf die organischen Bestandteile der Probe.

Tabelle 37: Ergebnisse der Elementaranalyse für das reine BSA.

Element	BSA _{analytisch} / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	50,32±0,50	1,00	0,50
H	7,15±0,29	4,10	0,29
N	15,01±0,58	3,84	0,58
S	1,46±0,04	2,50	0,04
O	24,39	nicht verfügbar	nicht verfügbar
Na	1,05±0,13	12,14	0,13

Tabelle 38: Ergebnisse der Elementaranalyse für die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel in einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-%.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	18,89±0,19	1,00	0,19
H	2,44±0,10	4,10	0,10
N	5,02±0,19	3,84	0,19
S	0,53±0,01	2,50	0,01
Na	0,29±0,04	12,14	0,04
Au	64,43±4,51	7,00	4,51

Da das BSA durch die Aminosäure Cystein sowohl über Schwefel- als auch über Aminogruppen verfügt, ist der Anteil des BSA an der gesamten organischen Masse ermittelbar. Bei den PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln wurde der Schwefelgehalt verwendet, da PVP Stickstoff enthält. Das TPPTS enthält Schwefelgruppen, sodass hier der Stickstoffgehalt herangezogen wird.

Wie schon für die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel wird auch für die TPPTS-stabilisierten Nanopartikel der Radius des Goldkerns von $r = 6,5 \text{ nm}$ verwendet. Somit lässt sich das Volumen eines kugelförmigen Nanopartikels ermitteln.

$$V_{\text{eines Nanopartikels}} = \frac{4}{3} \pi r^3 = 1,15 \cdot 10^3 \text{ nm}^3 = 1,15 \cdot 10^{-24} \text{ m}^3 \quad (32)$$

Für die Masse m eines Nanopartikels gilt:

$$\begin{aligned} m_{\text{eines Nanopartikels}} &= V_{\text{eines Nanopartikels}} \cdot \rho_{\text{Au}} \\ &= 1,15 \cdot 10^{-24} \text{ m}^3 \cdot 19320 \text{ kg m}^{-3} = 2,22 \cdot 10^{-20} \text{ kg} \end{aligned} \quad (33)$$

Diese Masse entspricht den 64,43 Gew.-% des reinen Goldes. Die Masse für das Nanopartikel inklusive der stabilisierenden Verbindungen (Citrat, TPPTS, BSA) beträgt $3,44 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$ (entsprechend 100 Gew.-%).

Der BSA-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Stickstoff-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss der Quotient aus dem Stickstoffanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen BSA gebildet werden. Es gilt:

$$w(\text{BSA}) = \frac{5,02}{15,01} \cdot 100 \% = 33,44 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,19}{5,02} \right)^2 + \left(\frac{0,58}{15,01} \right)^2} = 0,054$$

$$\Delta y = 33,44 \% \cdot 0,054 = 1,81 \%$$

Der BSA-Anteil beträgt somit $33,44 \pm 1,81 \%$.

Aus dem BSA-Anteil lässt sich wiederum der Schwefel-Anteil des BSA bestimmen:

$$(33,44 \pm 1,81 \cdot 1,46 \pm 0,04) \% = 0,49 \pm 0,03 \% \quad \text{Schwefel}$$

Der Schwefel-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $0,53 \pm 0,01 \%$. Aus der Differenz ergibt sich der Schwefel-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen TPPTS.

$$(0,53 \pm 0,01 - 0,49 \pm 0,03) \% = 0,04 \pm 0,03 \%$$

Der elementaranalytisch ermittelte Schwefel-Anteil des reinen TPPTS beträgt $16,06 \% \pm 0,40$. Der folgende Zusammenhang liefert den prozentualen Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen TPPTS.

$$\frac{0,04 \pm 0,03}{0,1606 \pm 0,004} = 0,25 \pm 0,19 \%$$

Es hat somit ein nahezu quantitativer Austausch des TPPTS gegen das BSA stattgefunden. Da der Fehler sehr groß ist, wird auf eine Berechnung des eventuell noch auf der Nanopartikel-Oberfläche befindlichen Citrats verzichtet.

Mit $w(\text{BSA}) = 33,44 \%$ ergibt sich die Masse des BSA auf einem Nanopartikel:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 1,15 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$$

Mit der molaren Masse $M(\text{BSA})$ von $67000 \text{ g mol}^{-1} = 67 \text{ kg mol}^{-1}$ und der Avogadrozahl ergibt sich die Masse eines BSA-Moleküls:

$$m_{\text{BSA-Molekül}} = \frac{67 \text{ kg mol}^{-1}}{6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}} = 1,11 \cdot 10^{-22} \text{ kg} \quad (34)$$

Die Anzahl der BSA-Moleküle pro Nanopartikel ergibt sich aus dem Quotient der Gesamtmasse des BSA auf einem Nanopartikel und der Masse eines BSA-Moleküls:

$$\text{BSA-Moleküle pro Nanopartikel} = \frac{1,15 \cdot 10^{-20} \text{ kg}}{1,11 \cdot 10^{-22} \text{ kg}} = 103 \pm 9$$

Die Oberfläche eines Gold-Nanopartikels mit dem Radius $r = 6,5 \text{ nm}$ beträgt 531 nm^2 .

Der Quotient aus der Oberfläche eines Gold-Nanopartikels und der Anzahl der BSA-Moleküle pro Nanopartikel führt zum Oberflächenbedarf eines einzigen BSA-Moleküls bei Annahme einer Monolage:

$$A_{\text{BSA-Molekül}} = \frac{531 \text{ nm}^2}{103} = \mathbf{5,16 \text{ nm}^2} \quad (35)$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich aus dem Fehler für die Bestimmung des Gold-Anteils sowie des Stickstoff-Anteils in der Gold-Probe und im reinen BSA:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{4,51}{64,43} \right)^2 + \left(\frac{0,19}{5,02} \right)^2 + \left(\frac{0,58}{15,01} \right)^2} = 0,09$$

$$\Delta y = 5,16 \text{ nm}^2 \cdot 0,09 = 0,46 \text{ nm}^2$$

Die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche beträgt somit $5,16 \pm 0,46 \text{ nm}^2$.

Für eine *side-on*-Adsorption wäre eine Fläche von $30,6 \text{ nm}^2$ zu erwarten gewesen, für eine *end-on*-Adsorption eine Fläche von $26,46 \text{ nm}^2$. Da der für diese Probe erhaltene Wert mit $5,16 \pm 0,46 \text{ nm}^2$ deutlich darunterliegt, kann von keiner BSA-Monolage auf den Nanopartikeln ausgegangen werden. Es ist vielmehr von einer Multilage auszugehen.

Die auf den Nanopartikeln adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche lässt sich auch berechnen. Die Masse des BSA auf einem Nanopartikel beträgt:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 1,15 \cdot 10^{-20} \text{ kg} = 1,15 \cdot 10^{-8} \text{ ng}$$

Die Oberfläche eines Nanopartikels beträgt 531 nm^2 .

Es folgt:

$$\frac{1,15 \cdot 10^{-8} \text{ ng}}{5,31 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2} = \mathbf{2166 \frac{\text{ng}}{\text{cm}^2}}$$

Der Gesamtfehler resultiert aus den Einzelfehlern für die Gold- und BSA-Bestimmung. Der Wert für die adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche beträgt somit $2166 \pm 192 \text{ ng cm}^{-2}$. Verglichen mit der in der Literatur^[204] angegebenen BSA-Menge von 441 ng cm^{-2} für eine Monolage kann hier nicht von einer Monolage ausgegangen werden. Bei der Bildung des Quotienten aus 2166 ng cm^2 und 441 ng cm^2 ergibt sich etwa eine fünffache BSA-Lage.

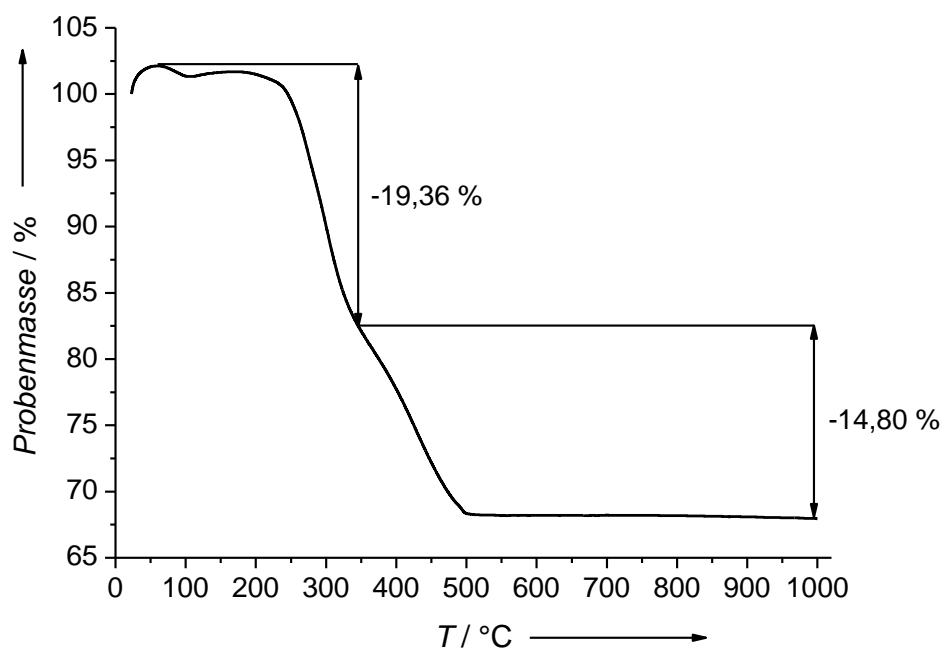


Abbildung 94: Thermogramm TPPTS-stablisierter Gold-Nanopartikel nach Zugabe von 1 Gew.-% BSA. Der Goldgehalt in der Dispersion betrug 61,25 mg. Die Einwage der Probe betrug 23 mg. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} 34,16 %.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 500 °C einen Masseverlust von 34,16 %. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Ein weiterer Masseverlust bis 1000 °C ist nicht erkennbar. Das deutet auf eine vollständige Entfernung des Citrats und dessen Zersetzungsprodukte von der Oberfläche der Gold-Nanopartikel hin. Die Ergebnisse der Thermoanalyse zeigen unter Berücksichtigung der Fehler eine gute Übereinstimmung mit den elementaranalytischen Daten. Die Nanopartikel enthalten bezogen auf die elementaranalytischen Ergebnisse 33,44 % BSA und nur noch 0,25 % TPPTS.

Zugabe zu einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,1 Gew.-%

Analog zu der BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-% erfolgt die Ermittlung des Grades der Adsorption des BSA auf der Oberfläche der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Elementaranalyse der Probe nach der Adsorption des BSA sowie die Daten bezogen auf die organischen Bestandteile der Probe.

Tabelle 39: Ergebnisse der Elementaranalyse für die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel in einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,1 Gew.-%.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	5,60±0,06	1,00	0,06
H	0,68±0,03	4,10	0,03
N	1,28±0,05	3,84	0,05
S	0,31±0,01	2,50	0,01
Na	0,13±0,02	12,14	0,02
Au	88,73±6,21	7,00	6,21

Die Masse von $2,22 \cdot 10^{-20}$ kg entspricht den 88,73 Gew.-% des reinen Goldes. Die Masse für das Nanopartikel inklusive der stabilisierenden Verbindungen (Citrat, TPPTS, BSA) beträgt $2,50 \cdot 10^{-20}$ kg (entsprechend 100 Gew.-%).

Der BSA-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich aus dem Stickstoff-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss wiederum der Quotient aus dem Stickstoffanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen BSA gebildet werden. Es gilt:

$$w(BSA) = \frac{1,28}{15,01} \cdot 100 \% = 8,53 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,05}{1,28} \right)^2 + \left(\frac{0,58}{15,01} \right)^2} = 0,05$$

$$\Delta y = 8,53 \% \cdot 0,05 = 0,47 \%$$

Der BSA-Anteil beträgt somit $8,53 \pm 0,47 \%$.

Aus dem BSA-Anteil lässt sich wiederum der Schwefel-Anteil des BSA bestimmen:

$$(8,53 \pm 0,47 \cdot 1,46 \pm 0,04) \% = 0,12 \pm 0,007 \% \quad \text{Schwefel}$$

Der Schwefel-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $0,31 \% \pm 0,01 \%$. Aus der Differenz ergibt sich der Schwefel-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen TPPTS.

$$(0,31 \pm 0,01 - 0,12 \pm 0,007) \% = 0,19 \pm 0,07 \%$$

Der elementaranalytisch ermittelte Schwefel-Anteil des reinen TPPTS beträgt $16,06 \pm 0,40$. Der folgende Zusammenhang liefert den prozentualen Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen TPPTS.

$$\frac{0,19 \pm 0,07}{0,1606 \pm 0,004} = 1,18 \pm 0,44 \%$$

Es hat somit kein quantitativer Austausch des TPPTS gegen das BSA stattgefunden. Da der Fehler sehr groß ist, wird auf eine Berechnung des eventuell noch auf der Nanopartikel-Oberfläche befindlichen Citrats verzichtet.

Mit $w(\text{BSA}) = 8,53 \%$ ergibt sich die Masse des BSA auf einem Nanopartikel:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 2,13 \cdot 10^{-21} \text{ kg}$$

Auf einem Gold-Nanopartikel adsorbieren somit $19,19 \pm 1,71$ BSA-Moleküle. Mit einer Oberfläche eines einzelnen Gold-Nanopartikels von 531 nm^2 beträgt die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche **$27,67 \text{ nm}^2$** .

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich aus dem Fehler für die Bestimmung des Gold-Anteils, sowie des Stickstoff-Anteils in der Gold-Probe und im reinen BSA:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{6,21}{88,73} \right)^2 + \left(\frac{0,05}{1,28} \right)^2 + \left(\frac{0,58}{15,01} \right)^2} = 0,09$$

$$\Delta y = 27,67 \text{ nm}^2 \cdot 0,09 = 2,46 \text{ nm}^2$$

Die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche beträgt $27,67 \pm 2,46 \text{ nm}^2$.

Für eine *side-on*-Adsorption wäre eine Fläche von $30,6 \text{ nm}^2$ zu erwarten gewesen, für eine *end-on*-Adsorption eine Fläche von $26,46 \text{ nm}^2$. Näherungsweise stimmt der

Wert von $27,67 \pm 2,46 \text{ nm}^2$ mit beiden Werten überein, was auf eine BSA-Monolage auf den Gold-Nanopartikeln schließen lässt.

Ferner lässt sich die auf den Nanopartikeln adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche berechnen. Die Masse des BSA auf einem Nanopartikel beträgt:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 2,13 \cdot 10^{-21} \text{ kg} = 2,13 \cdot 10^{-9} \text{ ng}$$

Die Oberfläche eines Nanopartikels beträgt 531 nm^2 .

Es folgt:

$$\frac{2,13 \cdot 10^{-9} \text{ ng}}{5,31 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2} = \mathbf{401 \frac{ng}{cm^2}}$$

Der Gesamtfehler resultiert aus den Einzelfehlern für die Gold- und BSA-Bestimmung. Der Wert für die adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche beträgt somit $401 \pm 36 \text{ ng cm}^{-2}$. Verglichen mit der in der Literatur^[204] bestimmten BSA-Menge von 441 ng cm^{-2} für eine Monolage kann hier näherungsweise von einer Monolage ausgegangen werden.

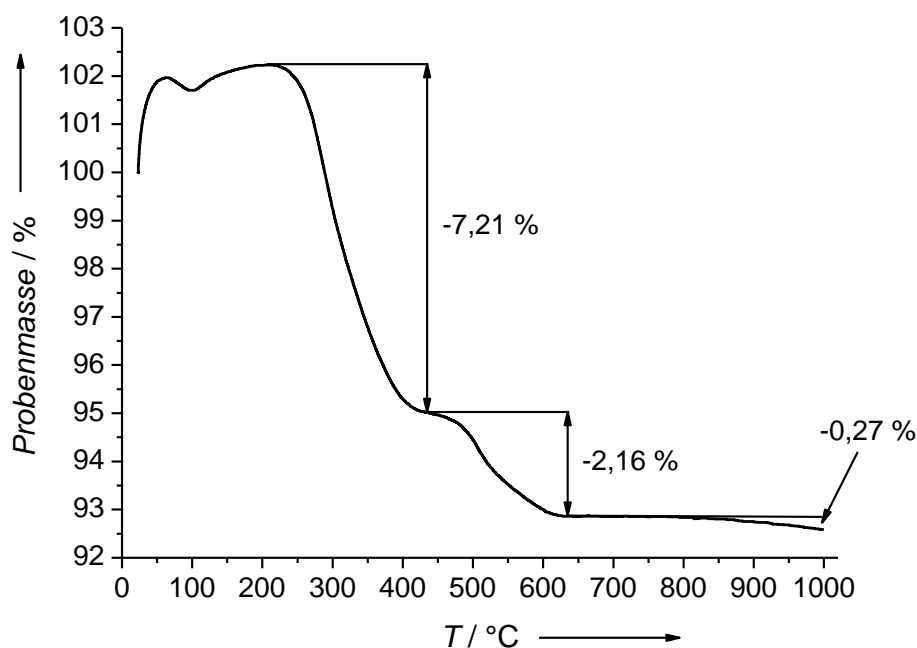


Abbildung 95: Thermogramm TPPTS-stablisierter Gold-Nanopartikel nach Zugabe von 0,1 Gew.-% BSA. Der Goldgehalt in der Dispersion betrug 61,25 mg. Die Einwage der Probe betrug 22,9 mg. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} 9,64 %.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 630 °C einen Masseverlust von 9,37 %. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von 0,27 % bis 1000 °C resultiert vermutlich wiederum aus der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats. Die Ergebnisse der Thermoanalyse zeigen unter Berücksichtigung der Fehler eine gute Übereinstimmung mit den elementaranalytischen Daten. Die Ergebnisse belegen aber auch, dass das BSA weder das TPPTS noch das Citrat oder dessen Zersetzungsprodukte quantitativ von der Oberfläche der Gold-Nanopartikel verdrängt hat. Ferner kann das Natriumcarbonat auch durch die Zersetzung des Phosphans oder des BSA zuvor erzeugt worden sein.

Zugabe zu einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,01 Gew.-%

Analog zu der BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 1 Gew.-% erfolgt die Ermittlung des Grades der Adsorption des BSA auf der Oberfläche der TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel. Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der

Elementaranalyse der Probe nach der Adsorption des BSA sowie die Daten bezogen auf die organischen Bestandteile der Probe.

Tabelle 40: Ergebnisse der Elementaranalyse für die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel in einer BSA-Lösung mit einem Massenanteil von 0,01 Gew.-%.

Element	Probe / %	Erweiterte Messunsicherheit / %	Relativer Fehler / %
C	5,66±0,06	1,00	0,06
H	0,70±0,03	4,10	0,03
N	1,35±0,05	3,84	0,05
S	0,31±0,01	2,50	0,01
Na	0,15±0,02	12,14	0,02
Au	89,17±6,24	7,00	6,24

Die Masse von $2,22 \cdot 10^{-20}$ kg entspricht den 89,17 Gew.-% des reinen Goldes. Die Masse für das Nanopartikel inklusive der stabilisierenden Verbindungen (Citrat, TPPTS, BSA) beträgt $2,49 \cdot 10^{-20}$ kg (entsprechend 100 Gew.-%).

Der BSA-Gehalt der Gold-Nanopartikel lässt sich wiederum aus dem Stickstoff-Gehalt in der Probe bestimmen. Hierzu muss der Quotient aus dem Stickstoffanteil der Nanopartikel-Probe und des reinen BSA gebildet werden. Es gilt:

$$w(BSA) = \frac{1,35}{15,01} \cdot 100 \% = 8,99 \%$$

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich wie folgt:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{0,05}{1,35} \right)^2 + \left(\frac{0,58}{15,01} \right)^2} = 0,054$$

$$\Delta y = 8,99 \% \cdot 0,054 = 0,48 \%$$

Der BSA-Anteil beträgt somit $8,99 \pm 0,48 \%$.

Aus dem BSA-Anteil lässt sich wiederum der Schwefel-Anteil des BSA bestimmen:

$$(8,99 \pm 0,48 \cdot 1,46 \pm 0,04) \% = 0,13 \pm 0,008 \% \quad \text{Schwefel}$$

Der Schwefel-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $0,31 \% \pm 0,01 \%$. Aus der Differenz ergibt sich der Schwefel-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen TPPTS.

$$(0,31 \pm 0,01 - 0,13 \pm 0,008) \% = 0,18 \pm 0,01 \%$$

Der elementaranalytisch ermittelte Schwefel-Anteil des reinen TPPTS beträgt $16,06 \% \pm 0,40$. Der folgende Zusammenhang liefert den prozentualen Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen TPPTS.

$$\frac{0,18 \pm 0,01}{0,1606 \pm 0,004} = 1,12 \pm 0,07 \%$$

Es hat somit kein quantitativer Austausch des TPPTS gegen das BSA stattgefunden.

Aus dem TPPTS-Anteil lässt sich wiederum der Kohlenstoff-Anteil des TPPTS bestimmen:

$$(1,12 \pm 0,07 \cdot 36,27 \pm 0,36) \% = 0,41 \pm 0,026 \% \quad \text{Kohlenstoff aus TPPTS}$$

Aus dem BSA-Anteil lässt sich analog der Kohlenstoff-Anteil des BSA bestimmen:

$$(8,99 \pm 0,48 \cdot 50,32 \pm 0,5) \% = 4,52 \pm 0,25 \% \quad \text{Kohlenstoff aus BSA}$$

Der Kohlenstoff-Anteil an den Gold-Nanopartikeln betrug $5,66 \pm 0,06 \%$. Aus der Differenz ergibt sich der Kohlenstoff-Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen Citrats.

$$(5,66 \pm 0,06 - 4,52 \pm 0,25 - 0,41 \pm 0,026) \% = 0,73 \pm 0,26 \%$$

Der stöchiometrisch berechnete Kohlenstoff-Anteil des reinen Citrats beträgt $27,91 \pm 0,40$. Der folgende Zusammenhang liefert den prozentualen Anteil des auf den Gold-Nanopartikeln zurückgebliebenen Citrats.

$$\frac{0,73 \pm 0,26}{0,279 \pm 0,004} = 2,62 \pm 0,93 \%$$

Das Ergebnis zeigt, dass noch eine beachtliche Menge des Citrats auf der Oberfläche adsorbiert vorliegt. Zu berücksichtigen ist jedoch der relativ große Fehler für den Citrat-Anteil.

Mit $w(\text{BSA}) = 8,99 \%$ ergibt sich die Masse des BSA auf einem Nanopartikel:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 2,24 \cdot 10^{-21} \text{ kg}$$

Auf einem Gold-Nanopartikel adsorbieren $20,18 \pm 1,78$ BSA-Moleküle. Mit einer Oberfläche eines einzelnen Gold-Nanopartikels von 531 nm^2 beträgt die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche **$26,31 \text{ nm}^2$** .

Der mittlere quadratische relative Fehler ergibt sich aus dem Fehler für die Bestimmung des Gold-Anteils, sowie des Stickstoff-Anteils in der Gold-Probe und im reinen BSA:

$$\frac{\Delta y}{\bar{y}} = \sqrt{\sum_{i=1}^k \left(\frac{\Delta x_i}{\bar{x}_i} \right)^2} = \sqrt{\left(\frac{6,24}{89,17} \right)^2 + \left(\frac{0,05}{1,35} \right)^2 + \left(\frac{0,58}{15,01} \right)^2} = 0,09$$

$$\Delta y = 26,31 \text{ nm}^2 \cdot 0,09 = 2,32 \text{ nm}^2$$

Die durch ein BSA-Molekül eingenommene Fläche beträgt $26,31 \pm 2,32 \text{ nm}^2$.

Für eine *side-on*-Adsorption wäre eine Fläche von $30,6 \text{ nm}^2$ zu erwarten gewesen, für eine *end-on*-Adsorption eine Fläche von $26,46 \text{ nm}^2$. Näherungsweise stimmt der Wert von $26,31 \pm 2,32 \text{ nm}^2$ mit beiden Werten überein, was auf eine BSA-Monolage auf den Gold-Nanopartikeln schließen lässt.

Die auf den Nanopartikeln adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche lässt sich auch berechnen. Die Masse des BSA auf einem Nanopartikel beträgt:

$$m(\text{BSA auf einem Nanopartikel}) = 2,24 \cdot 10^{-21} \text{ kg} = 2,24 \cdot 10^{-9} \text{ ng}$$

Die Oberfläche eines Nanopartikels beträgt 531 nm^2 .

Es folgt:

$$\frac{2,24 \cdot 10^{-9} \text{ ng}}{5,31 \cdot 10^{-12} \text{ cm}^2} = 422 \frac{\text{ng}}{\text{cm}^2}$$

Der Gesamtfehler resultiert aus den Einzelfehlern für die Gold- und BSA-Bestimmung. Der Wert für die adsorbierte BSA-Masse bezogen auf die Nanopartikel-Oberfläche beträgt somit $422 \pm 37 \text{ ng cm}^{-2}$. Verglichen mit der in der Literatur^[204] angegebenen BSA-Menge von 441 ng cm^{-2} für eine Monolage kann annähernd von einer Monolage ausgegangen werden.

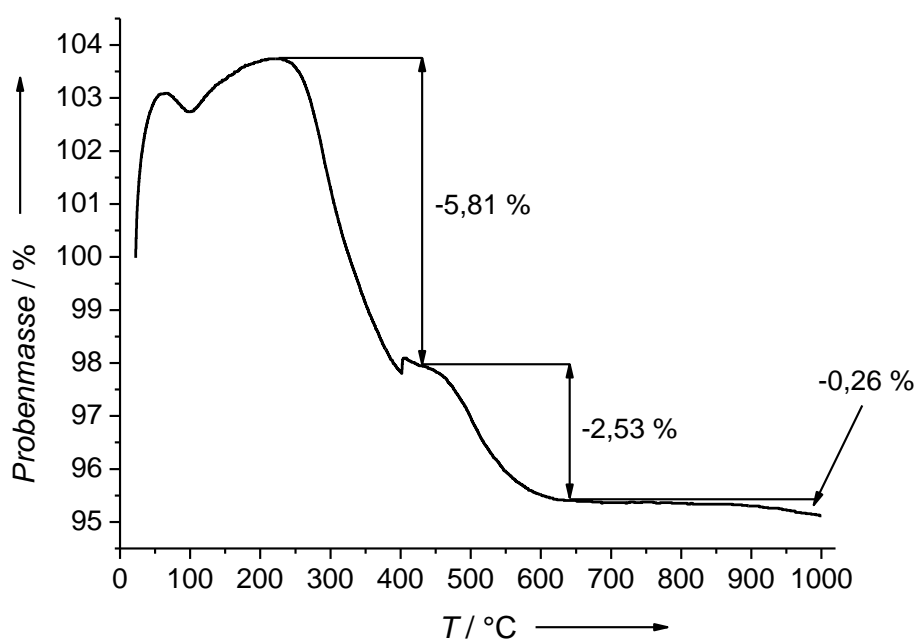


Abbildung 96: Thermogramm TPPTS-stablisierter Gold-Nanopartikel nach Zugabe von 0,01 Gew.-% BSA. Der Goldgehalt in der Dispersion betrug 61,25 mg. Die Einwage der Probe betrug 15,4 mg. Der Gesamtmasseverlust beträgt unter Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 5 K min^{-1} 8,6 %.

Die Thermogravimetrie liefert bis zu einer Temperatur von etwa 650 °C einen Masseverlust von 8,34 %. Das entspricht dem Gehalt der organischen Hülle der Nanopartikel. Der weitere Masseverlust von 0,26 % bis 1000 °C resultiert vermutlich wiederum aus der Zersetzung des zuvor gebildeten Natriumcarbonats. Die Ergebnisse der Thermoanalyse zeigen unter Berücksichtigung der Fehler eine gute Übereinstimmung mit den elementaranalytischen Daten.

Bei nahezu allen Thermogrammen ist zu erkennen, dass bei der Endtemperatur von 1000 °C noch ein Masseverlust eintritt. Bei der Synthese der Gold-Nanopartikel wird Trinatriumcitrat als Reduktionsmittel im Überschuss eingesetzt. Das fungiert zunächst auch als Stabilisator. Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass das Trinatriumcitrat nur durch das PVP quantitativ von der Oberfläche der Gold-Nanopartikel verdrängt werden konnte. Es wird vermutet, dass sich aus den Natrium-Ionen des Trinatriumcitrats, des TPPTS oder des BSA, dem Zersetzungsprodukt Kohlenstoffdioxid und dem Luftsauerstoff Natriumcarbonat gebildet hat. Um das zu prüfen, wurden etwa 8 g Trinatriumcitrat-Dihydrat in einem Korund-Tiegel bei 1000 °C für 1 h in einem Muffelofen gelagert. Das enthaltene Produkt wurde anschließend mittels Röntgenpulverdiffraktometrie und Elementaranalyse untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 97 und in Tabelle 41 dargestellt.

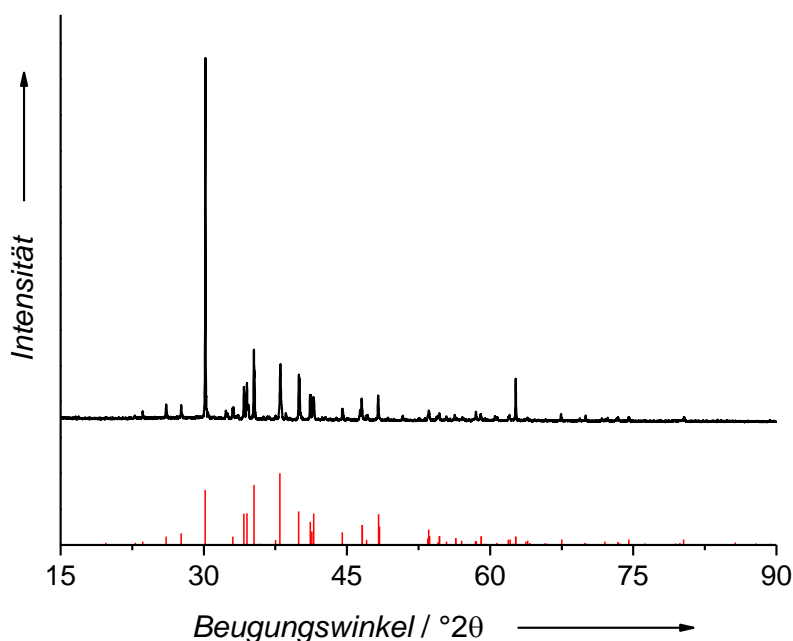


Abbildung 97: Röntgenpulverdiffraktogramm (schwarz, oben) von Natriumcarbonat, dargestellt aus Trinatriumcitrat-Dihydrat nach einer Verweilzeit von 1 h bei 1000 °C im Muffelofen unter Luftatmosphäre. Die aus der ICSD-Datenbank entnommenen Reflexlagen (Nr. 072-0628) sind zum Vergleich dargestellt (rot, unten).

Sowohl mittels Röntgenbeugung als auch mittels Elementaranalyse kann das reine Natriumcarbonat detektiert werden. Somit wäre der weitere Massenverlust bei 1000 °C in der Thermowaage geklärt.

Tabelle 41: Ergebnis der Elementaranalyse des Natriumcarbonats, dargestellt aus Trinatriumcitrat-Dihydrat nach einer Verweilzeit von 1 h bei 1000 °C im Muffelofen unter Luftatmosphäre.

Element	Theorie / %	Gefunden / %
Na	43,38	41,54
C	11,33	11,06
O	45,29	45,64

5.4.6. Zusammenfassung der Untersuchung der Funktionalisierung von Gold-Nanopartikeln

Es wurden Gold-Nanopartikel mit unterschiedlichen Stabilisatoren in diesem Kapitel mittels Elementar- und Thermoanalyse untersucht. Ausgegangen wurde von Citrat-stabilisierten Nanopartikeln. Die Stöchiometrie des Stabilisators konnte nicht eindeutig ermittelt werden. Vermutlich handelt es sich um ein Gemisch verschiedener Zersetzungsprodukte wie Natriumketoglutarat und Natriumacetat, die sich neben dem Natriumcitrat auf der Oberfläche der Nanopartikel befinden.^[196]

Anschließend wurde untersucht, ob PVP in der Lage ist, das Citrat oder dessen Zersetzungsprodukte quantitativ von der Oberfläche zu verdrängen. Hierzu wurden unterschiedliche PVP-Konzentrationen Citrat-stabilisierten Nanopartikeln zugesetzt. Es konnte festgestellt werden, dass das Citrat durch das PVP quantitativ verdrängt wird.

Bei den TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln zeigte sich eine signifikante Menge von verbliebenem Citrat auf der Oberfläche. Dort hat nur ein geringer Austausch stattgefunden.

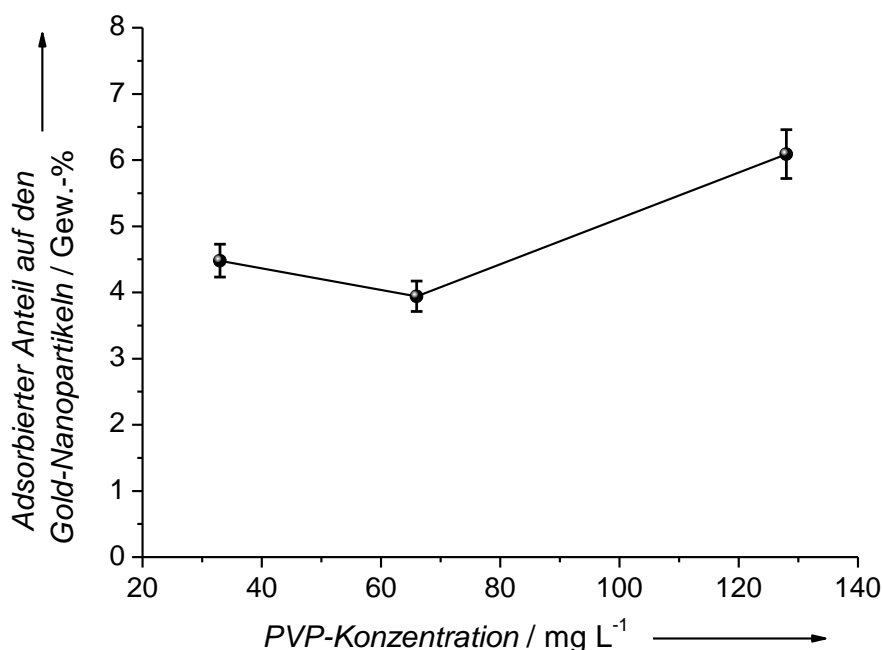


Abbildung 98: Ergebnis der Untersuchung der Umfunktionalisierung von Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikeln durch PVP. Es ist der auf der Oberfläche der Nanopartikel befindliche PVP-Massenanteil in Abhängigkeit verschiedener PVP-Konzentrationen (33 mg L^{-1} , 66 mg L^{-1} , 128 mg L^{-1}) dargestellt.

Sowohl die PVP- als auch die TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikel wurden mit einer 0,01 %igen, 0,1 %igen und 1 %igen BSA-Lösung versetzt. Das Ziel bestand in einer Ermittlung der Anzahl der Lagen des BSA auf den Nanopartikeln. Ferner wurde der Austausch des PVP oder TPPTS durch das BSA untersucht.

Bei den zunächst mit PVP-stabilisierten Nanopartikeln nimmt der BSA-Anteil mit Zunahme der BSA-Konzentration zu, wobei das BSA- zu PVP-Verhältnis nahezu konstant bleibt.

Bei den zunächst mit TPPTS-stabilisierten Nanopartikeln nimmt der BSA-Anteil mit Zunahme der BSA-Konzentration ebenfalls zu (Abbildung 99). Das Verhältnis zwischen dem BSA und dem Gemisch aus TPPTS und Citrat auf der Oberfläche der Nanopartikel nimmt ebenfalls mit Zunahme der BSA-Konzentration zu.

Eine mögliche Erklärung dieses Phänomens könnte darin liegen, dass das PVP zwar chemisch nicht so stark an die Gold-Oberfläche anbindet, dafür aber sehr raumfordernd ist. Dadurch wird der Zugang zur Goldoberfläche erschwert. Das BSA ist folglich nicht in der Lage, eine Gold-Schwefel-Bindung, ausgehend vom Cystein,

auszubilden. Beim TPPTS ist die Situation eine andere. Das TPPTS ist durch das Phosphoratom zwar stärker auf der Goldoberfläche gebunden, schirmt die Gold-Oberfläche aber weniger gut sterisch ab. Das ermöglicht es dem BSA, über die Ausbildung einer Gold-Schwefel-Bindung das TPPTS von der Oberfläche zu verdrängen (Abbildung 100).

Neben einer Anbindung des BSA an die Goldoberfläche über das Cystein wird auch eine Wechselwirkung mit der Amino-Gruppe des Lysins oder der Imidazol-Gruppe des Histidins in der Literatur diskutiert.^[213] Darüber hinaus kann auch eine elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Amino-Gruppen des Lysins mit der negativ geladenen Goldoberfläche vorliegen.^[213] Dieser Fall würde nicht zu einem Austausch des ursprünglichen Stabilisators führen.

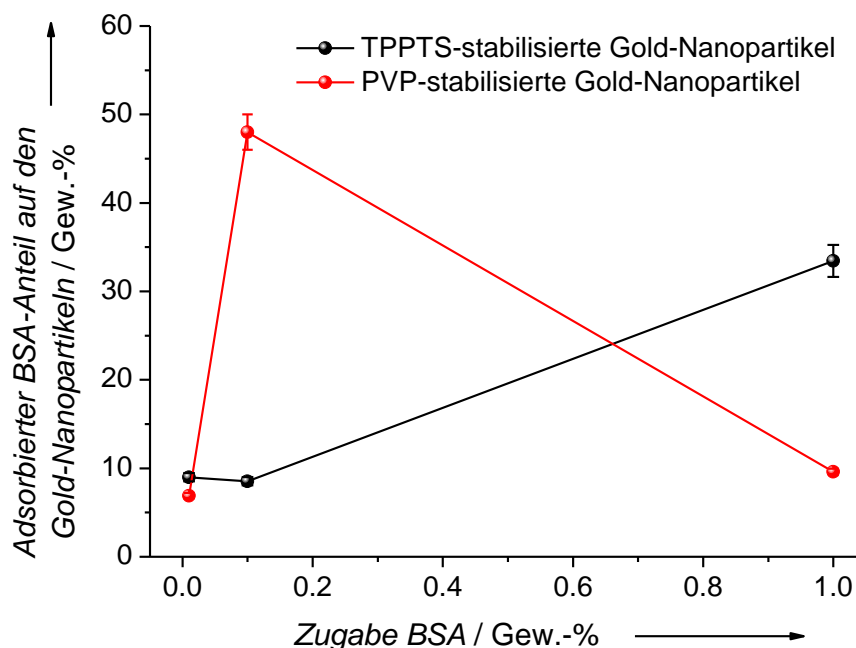


Abbildung 99: Ergebnis der Untersuchung der BSA-Adsorption auf TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (128 mg L^{-1} PVP). Es ist der auf den Gold-Nanopartikeln adsorbierte BSA-Massenanteil in Abhängigkeit von der zugegebenen BSA-Menge dargestellt.

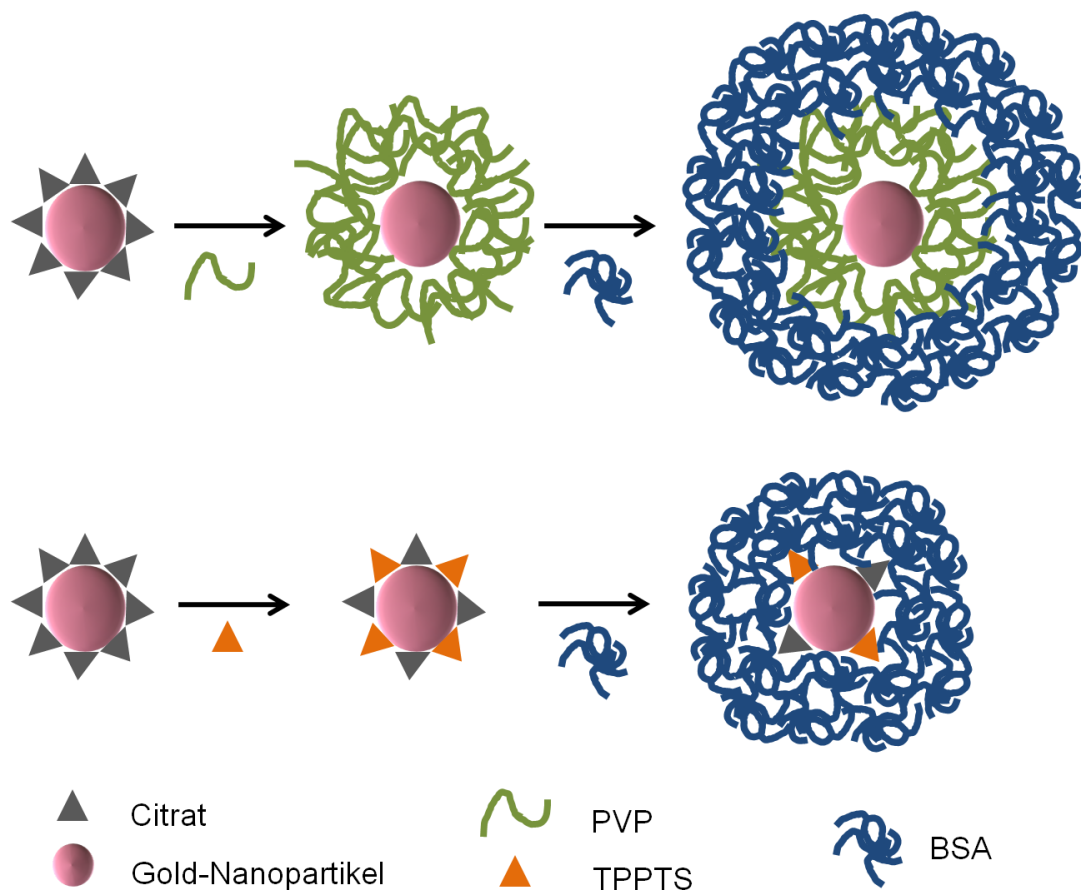


Abbildung 100: Schematische Darstellung des Mechanismus der Umfunktionalisierung von Gold-Nanopartikeln. Die Gold-Nanopartikel sind nach der Synthese zunächst Citrat-stabilisiert (links). Durch die Zugabe von PVP oder TPPTS erfolgt beim PVP eine vollständige Substitution des Citrats, beim TPPTS partiell ein Austausch des Citrats durch den Phosphan-Liganden (Mitte). Durch die Zugabe des BSA zu den Nanopartikeln erfolgt bei den PVP-stabilisierten Nanopartikeln eine Adsorption des BSA auf der PVP-Hülle, bei den TPPTS-stabilisierten Nanopartikeln vermutlich ein partieller Austausch des Citrats und des Phosphans gegen das BSA (rechts).

Um die Anzahl der Lagen des BSA zu ermitteln, wurde näherungsweise die eingenommene Fläche eines BSA-Moleküls auf der Oberfläche eines Gold-Nanopartikels berechnet. Verglichen mit den möglichen beanspruchten Flächen eines BSA-Moleküls, die aus Literaturdaten berechnet werden können,^[200] kann in nahezu allen Fällen von einer Monolage des BSA auf der Oberfläche der Gold-Nanopartikel ausgegangen werden. Das Protein kann mit der Dreiecksfläche in einem

sogenannten *side-on*-Mechanismus oder mit der Rechteckfläche einem *end-on*-Mechanismus folgend adsorbieren. Das Ergebnis ist in Abbildung 101 dargestellt.

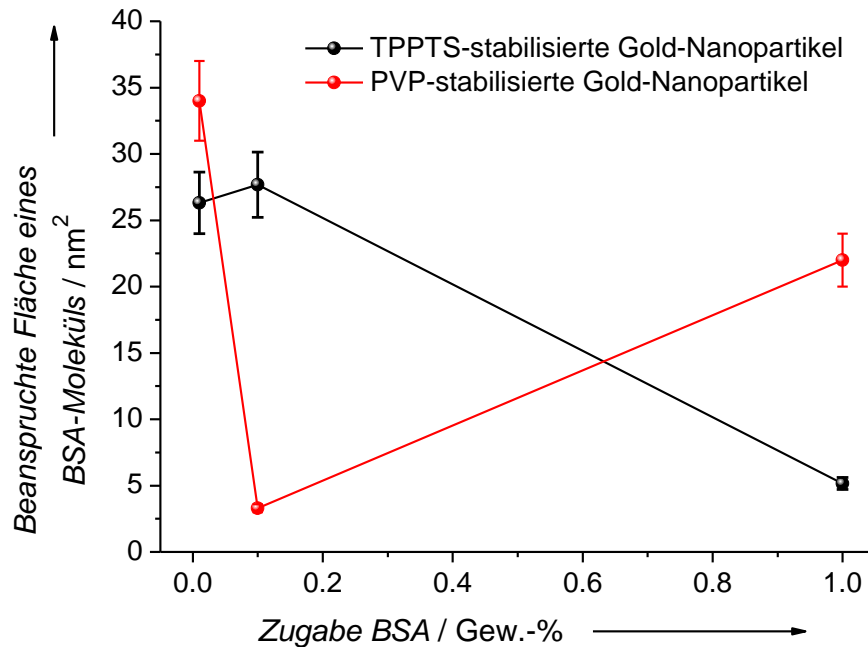


Abbildung 101: Darstellung der beanspruchten Fläche eines BSA-Moleküls berechnet aus den elementaranalytischen Daten. Dargestellt werden die Ergebnisse für TPPTS- und PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP) in Abhängigkeit des zugegebenen Massenanteils an BSA.

Verglichen mit den Arbeiten von *Müller et al.*^[210] und *Rezwan et al.*^[204, 211, 212] ist eine gute Übereinstimmung mit den in dieser Arbeit erarbeiteten Ergebnissen festzustellen. Die Werte für die adsorbierte BSA-Menge liegen zwischen 328 ng cm^{-2} und 501 ng cm^{-2} . In beiden Grenzfällen handelte es sich um eine 0,01 %ige bzw. 1 %ige BSA-Lösung und um PVP-stabilisierte Nanopartikel. Es konnte näherungsweise eine Monolage angenommen werden.

Die folgenden Tabellen fassen die Ergebnisse der Untersuchung der unterschiedlich funktionalisierten Gold-Nanopartikel zusammen.

Tabelle 42: Normierte Menge des adsorbierten BSA auf den unterschiedlich stabilisierten Gold-Nanopartikeln.

Gold-Nanopartikel	BSA-Gehalt der Lösung	Adsorbierte BSA-Menge
PVP-stabilisiert (128 mg L ⁻¹ PVP)	1 Gew.-%	501±40 ng cm ⁻²
PVP-stabilisiert (128 mg L ⁻¹ PVP)	0,1 Gew.-%	3371±275 ng cm ⁻²
PVP-stabilisiert (128 mg L ⁻¹ PVP)	0,01 Gew.-%	328±27 ng cm ⁻²
TPPTS-stabilisiert	1 Gew.-%	2166±192 ng cm ⁻²
TPPTS-stabilisiert	0,1 Gew.-%	401±36 ng cm ⁻²
TPPTS-stabilisiert	0,01 Gew.-%	422±37 ng cm ⁻²

Tabelle 43: Zusammenfassung der Ergebnisse der Charakterisierung der Citrat-, TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel. Beim PVP sind die unterschiedlichen Konzentrationen angegeben.

	Citrat	TPPTS	PVP 33 mg L⁻¹	PVP 66 mg L⁻¹	PVP 128 mg L⁻¹
Durchmesser DLS	17±0 nm	20±0 nm	51±1 nm	41±0 nm	52±1 nm
Durchmesser Scheibenzen- trifugation	11±3 nm	13±3 nm	12±3 nm	12±3 nm	12±3 nm
Zetapotential	-35±10 mV	-44±34 mV	-12±10 mV	-24±12 mV	-34±6 mV
Au	95,82± 6,7 %	95,88± 6,7 %	92,47± 6,4 %	93,40± 6,5 %	93,24± 6,5 %
C	0,87± 0,01 %	1,11± 0,01 %	2,51± 0,03 %	2,23± 0,02 %	3,56± 0,04 %
H	0,17± 0,01 %	0,13± 0,01 %	0,27± 0,01 %	0,205± 0,01 %	0,46± 0,02 %
N	-	-	0,50± 0,02 %	0,44± 0,02 %	0,68± 0,03 %
S	-	0,23± 0,01 %	-	-	-
Na	1,05± 0,13 %	0,48± 0,06 %	0,17± 0,02 %	0,18± 0,02 %	0,51± 0,06 %
Masseverlust zwischen 25 °C und 700 °C (TG)	1,9± 0,2 %	1,3± 0,2 %	3,8± 0,2 %	4,1± 0,2 %	4,8± 0,2 %

Tabelle 44: Zusammenfassung der Ergebnisse der Charakterisierung der mit BSA funktionalisierten TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel (128 mg L^{-1} PVP). Beim BSA sind die unterschiedlichen Massenanteile angegeben.

	1 % BSA PVP	0,1 % BSA PVP	0,01 % BSA PVP	1 % BSA TPPTS	0,1 % BSA TPPTS	0,01 % BSA TPPTS
Durchmesser	53 nm	99 nm	96 nm	81 nm	46 nm	47 nm
DLS					396 nm	658 nm
	$\pm 0 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 0 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 1 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 1 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 4 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 1 \text{ nm}$ (Max.)
Durchmesser	10 nm	9 nm	11 nm	51 nm	51 nm	11 nm
Scheibenzen-	12 nm	13 nm		68 nm	61 nm	50 nm
trifugation	$\pm 3 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 3 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 3 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 3 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 3 \text{ nm}$ (Max.)	$\pm 3 \text{ nm}$ (Max.)
Zetapotential	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Au	79,84 \pm 5,59 %	59,44 \pm 4,16 %	87,39 \pm 6,12 %	64,43 \pm 4,51 %	88,73 \pm 6,21 %	89,17 \pm 6,24 %
C	9,51 \pm 0,10 %	19,18 \pm 0,19 %	6,94 \pm 0,07 %	18,89 \pm 0,19 %	5,60 \pm 0,06 %	5,66 \pm 0,06 %
H	1,30 \pm 0,05 %	2,53 \pm 0,10 %	0,85 \pm 0,03 %	2,44 \pm 0,10 %	0,68 \pm 0,03 %	0,70 \pm 0,03 %
N	2,23 \pm 0,09 %	4,94 \pm 0,19 %	1,50 \pm 0,06 %	5,02 \pm 0,19 %	1,28 \pm 0,05 %	1,35 \pm 0,05 %
S	0,14 \pm 0,004 %	0,70 \pm 0,02 %	0,10 \pm 0,003 %	0,53 \pm 0,01 %	0,31 \pm 0,01 %	0,31 \pm 0,01 %
Na	0,21 \pm 0,03 %	0,30 \pm 0,04 %	0,28 \pm 0,03 %	0,29 \pm 0,04 %	0,13 \pm 0,02 %	0,15 \pm 0,02 %
Masseverlust	12,66 \pm	36,25 \pm	10,76 \pm	34,16 \pm	9,37 \pm	8,34 \pm
zwischen	0,2 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %
25 °C und						
700 °C (TG)						

5.5. Zellbiologische Untersuchungen

Zur Untersuchung der biologischen Aktivität unter dem Einfluss von Gold-Nanopartikeln wurden humane mesenchymale Stammzellen (hMSC) verwendet. Diese dienten als *in vitro*-Modell für humane Zellen. Humane mesenchymale Stammzellen gehören zur Gruppe der Primärzellen und besitzen den Vorteil, über mehrere Zyklen kultiviert werden zu können. Humane mesenchymale Stammzellen befinden sich in den verschiedensten Gewebeteilen, wie in den Muskeln, dem Knochenmark oder im Fettgewebe. Darüber hinaus sind diese Zellen auch im Blut nachweisbar.^[214] Sie zeichnen sich durch ein hohes Proliferations- und Differenzierungspotential aus. Diese Eigenschaften führen zu einem optimalen zellulärem Modellsystem, an dem der Einfluss von nanopartikulärem Gold untersucht werden kann.^[215] Die zellbiologischen Untersuchungen wurden von Frau Dipl.-Biol. Christina Greulich, chirurgischen Forschung am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum, durchgeführt.

5.5.1. Zellviabilität

Durch die Inkubation von adhärenenten hMSC mit Gold-Nanopartikeln mit unterschiedlichen Goldkonzentrationen wurde der zytotoxische Effekt der Nanopartikel untersucht. Die Toxizität wurde durch einen Viabilitätstest bestimmt, bei dem den lebenden Zellen der in der Biologie etablierte Fluoreszenzfarbstoff Calcein-Acetoxy-methylester (Calcein-AM) zugesetzt und das Ergebnis mittels Fluoreszenzmikroskopie analysiert wurde. Der Farbstoff wird durch Transportprozesse in die lebenden Zellen eingebracht. Dadurch findet eine enzymatische Abspaltung der Acetoxy-methylgruppe statt. Das hierdurch freigewordene Calcein ist dann in der Lage die sich in den Zellen befindlichen Calcium-Ionen zu komplexieren, woraus die grüne Fluoreszenz resultiert. Somit ist es möglich die lebenden Zellen zu detektieren, da das Enzym in toten Zellen nicht mehr aktiv ist.^[216, 217] Abbildung 102 zeigt die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen der mit dem Fluoreszenzfarbstoff angefärbten Zellen.

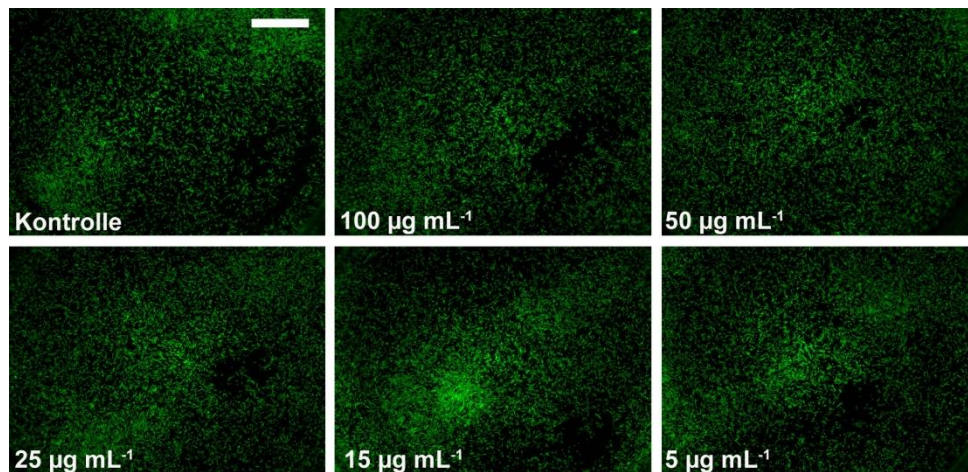


Abbildung 102: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC), die sich 24 h in dem Zellkulturmedium RPMI mit einem Zusatz von 10 % FCS befanden. Die Zellen wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Darstellung nach der Standard-Citrat-Methode) inkubiert. In der Kontrolle befanden sich keine Gold-Nanopartikel. Lebende Zellen wurden durch den Farbstoff Calcein-AM fluoreszenzmarkiert. Der Maßstab beträgt 2 mm.

Der Abbildung ist deutlich zu entnehmen, dass die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel keinen Einfluss auf die Viabilität der hMSC hatten. Die Gold-Konzentration der Gold-Nanopartikel, mit denen die Zellen inkubiert wurden, lag zwischen 5 bis 100 µg L⁻¹. Abbildung 103 zeigt die quantitative Auswertung der Zellviabilität. Hierzu wurden die Stammzellen mit dem Fluoreszenzfarbstoff Calcein-AM angefärbt und mittels digitaler Bildanalyse (Phasenanalyse) analysiert.

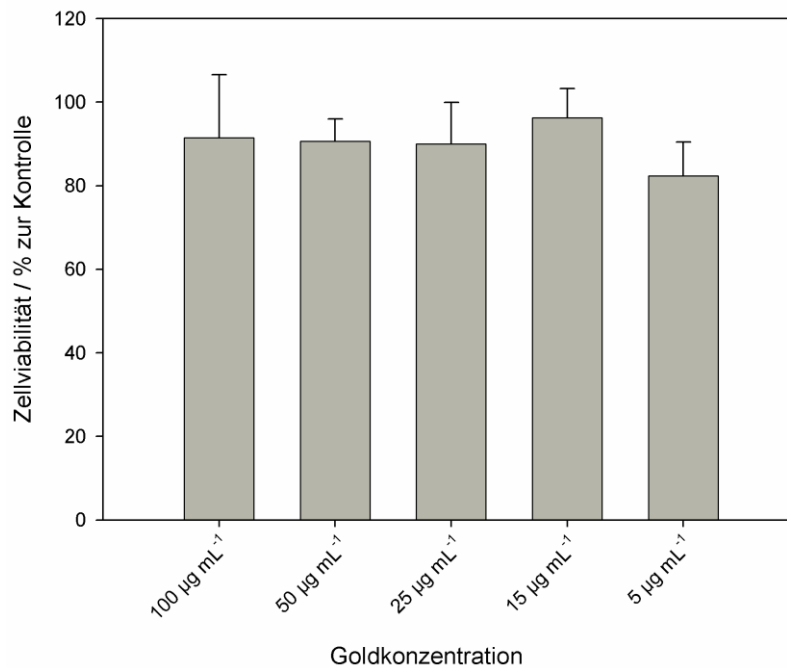


Abbildung 103: Einfluss von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Darstellung nach der Standard-Citrat-Methode) auf die Viabilität von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC). Die Zellen wurden mit unterschiedlichen Nanopartikel-Konzentrationen inkubiert und 24 h unter Zellkulturbedingungen bei 37 °C gelagert. Die lebenden Zellen wurden durch den Farbstoff Calcein-AM fluoreszenzmarkiert und mittels digitaler Bildanalyse (Phasenanalyse) quantifiziert. In der Kontrolle befanden sich keine Gold-Nanopartikel.

Die Zellviabilität liegt immer im Bereich zwischen 80 und 100 %, wobei die geringste Viabilität bei der geringsten Gold-Konzentration detektiert wurde. Es kann keine konzentrationsabhängige Toxizität beobachtet werden, wenn man die Fehlertoleranz der Untersuchung berücksichtigt.

5.5.2. Chemotaxis

Unter der Chemotaxis wird allgemein die aktive Migration von Zellen unter dem Einfluss eines Lockstoffs verstanden. Als Lockstoff diente bei den Experimenten der Überstand von zuvor Lipopolysaccharid-stimulierten peripheren mononuklearen Blutzellen (*Peripheral blood mononuclear cell*, PBMC). Die Stammzellen wurden für 3 Tage mit PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln unter Zellkulturbedingungen inkubiert. Die positive Kontrolle erfolgte mit dem Lockstoff, allerdings ohne den

Zusatz von Gold-Nanopartikeln. In der Negativkontrolle waren weder Lockstoff noch Gold-Nanopartikel zugegen. Die Messung der Chemotaxis erfolgte mit Hilfe des Transwellsystems. In dieses System wurde ein Zellkulturinsert eingebracht, welches über eine Membran verfügt. Auf diese Membran migrieren die Zellen und können somit nach dem Herausnehmen des Zellkulturinserts aus dem Transwellsystem quantifiziert werden. Das geschieht durch den Fluoreszenzfarbstoff Calcein-AM, der die migrierten Zellen anfärbt. Die Analyse erfolgte mittels Fluoreszenzmikroskopie. In allen Fällen war die Chemotaxis oberhalb der Negativkontrolle. Der Negativkontrolle wurden unter sonst identischen Bedingungen keine Gold-Nanopartikel zugesetzt. Im Vergleich zur Positivkontrolle zeigen die Zellen, welche in Anwesenheit von Gold-Nanopartikeln inkubiert wurden, keinen Einfluss auf das chemotaktische Verhalten von Stammzellen (Abbildung 104).

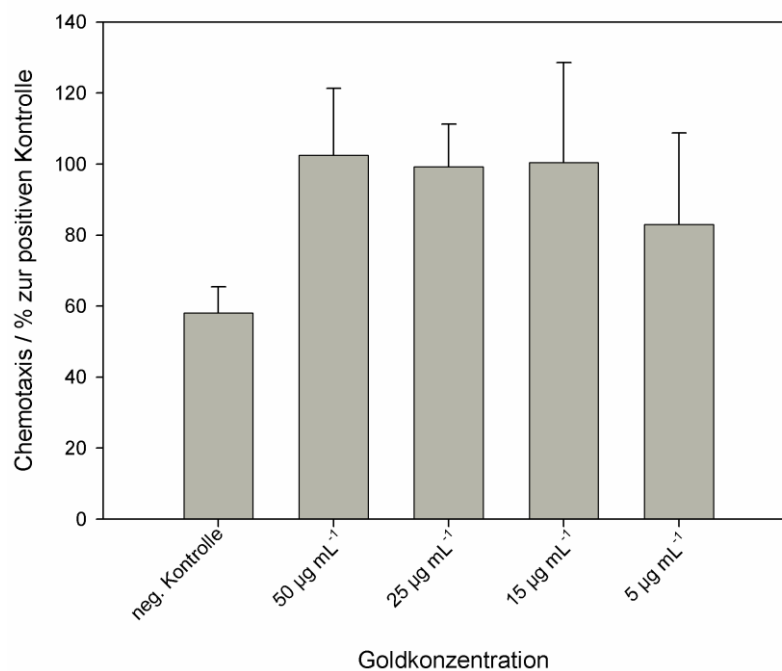


Abbildung 104: Einfluss von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln auf die Chemotaxis von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC). Die Zellen wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Darstellung nach der Standard-Citrat-Methode) inkubiert und für 3 Tage unter Zellkulturbedingungen gelagert. Die beweglichen Zellen wurden mittels Fluoreszenzanalyse auf einer Chemotaxis-Membran quantifiziert. Die positive Kontrolle wurde mit dem Lockstoff jedoch ohne Gold-Nanopartikel durchgeführt. Die negative Kontrolle entspricht der zufälligen Beweglichkeit gegenüber dem reinen Zellkulturmedium.

5.5.3. Cytokin-Freisetzung

Zur Gruppe der Cytokine gehören neben den Interleukinen auch Wachstumsfaktoren wie der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF). Interleukine sind Glykoproteine, die aus einem oder mehreren Zuckern aufgebaut sind. Sie haben einerseits eine regulierende Funktion für das Wachstum und die Differenzierung von Zellen, andererseits dienen sie der Kommunikation der Immunabwehrzellen, den Leukozyten, untereinander. VEGF ist ein wichtiges Signalmolekül, das an der Neubildung von Blutgefäßen beteiligt ist.^[218] Die Cytokinfreisetzung gibt damit indirekt einen Aufschluss über den Stressfaktor, den eine Zelle nach der Inkubation mit den Gold-Nanopartikeln spürt. Die hMSC wurden mit unterschiedlich konzentrierten Gold-Nanopartikeln für 24 h inkubiert und die Cytokinfreisetzung mittels ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) ausgewertet. ELISA ist ein in der Immunologie eingesetztes Nachweisverfahren, welches auf eine enzymatische Farbreaktion zurückzuführen ist. Dabei kommt es zu einer Anbindung eines Antigens an den zu detektierenden Stoff. Das Antigen wiederum wird mit einem Enzym versehen, das eine Reaktion katalysieren kann, die eine Fluoreszenzemission zur Folge hat. Diese Emission wiederum weist das Antigen nach. Die Konzentration des Antigens ist somit direkt proportional zur Intensität der Fluoreszenzemission, womit das Experiment quantitativ ausgewertet werden kann. Es wurde die Freisetzung der Interleukine IL-6, IL-8, IL-11 und des Wachstumsfaktors VEGF untersucht. Interleukin-6 (IL-6) stimuliert in der Leber die vermehrte Synthese der Akute-Phase-Proteine. Diese werden bei Gewebeschädigungen infolge einer Verletzung oder Operation gebildet und dienen der Lokalisierung und der Verhinderung der Ausbreitung der Entzündung. Interleukin-8 gehört zur Familie der Chemokinen und wird z.B. durch Endothelzellen, Epithelzellen oder Fibroblasten gebildet. Interleukin-8 (IL-8) ist ein Signalprotein, welches die Chemotaxis in Zellen auslösen kann. Das Interleukin-11 (IL-11) gehört zu den anti-inflammatorischen Cytokinen, die eine überschießende Entzündungsreaktion unterdrücken können. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Abbildung 105 dargestellt.

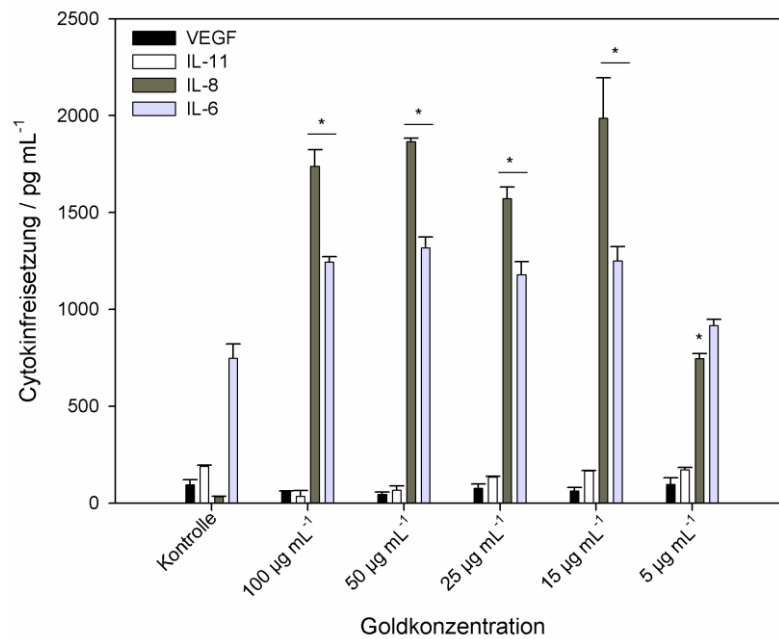


Abbildung 105: Einfluss von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln (Darstellung nach der Standard-Citrat-Methode) auf die Freisetzung verschiedener Cytokine von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC). Die Freisetzung der Cytokine wurde mittels ELISA im Überstand bestimmt. (*: signifikant im Vergleich zur Kontrolle, welche unter denselben Bedingungen ohne den Zusatz von PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikeln durchgeführt wurde; $p < 0,005$)

Gold-Nanopartikel induzieren die verstärkte Freisetzung der Interleukine-6 und -8, insbesondere bei niedrigen Gold-Konzentrationen. Sowohl beim Interleukin-11 als auch beim Wachstumsfaktor VEGF war keine signifikante Erhöhung der Freisetzung festzustellen. Das ist ein Hinweis auf die Aktivierung der Stammzellen durch die Nanopartikel. Eine Aktivierung der Stammzellen kann auch von Kontaminationen durch Lipopolysacchariden ausgehen, wodurch ebenfalls die Cytokinfreisetzung erhöht wird. Hierzu wurde der Limulus-Test (*Limulus amoebocyte lysate*, LAL) auf die PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel angewendet. Dieser hätte ausschließen können, dass die Gold-Nanopartikel während der Synthese durch Lipopolysaccharide kontaminiert wurden. Dieser Test lieferte kein eindeutiges Ergebnis, da dispergierte Gold-Nanopartikel mit dem kalorimetrischen Auslesesystem des Assays interferieren. Dies geschieht nicht ausschließlich durch Lichtabsorption, sondern auch durch die katalytischen Eigenschaften des Goldes.^[219] In der Literatur ist allerdings zu finden, dass hMSC über keinen bedeutenden Rezeptor für

Lipopolysaccharide verfügen.^[220] Somit ist die Cytokinfreisetzung ausschließlich auf den Einfluss der Gold-Nanopartikel zurückzuführen.

5.5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der zellbiologischen Untersuchungen

Es konnte gezeigt werden, dass PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel, die durch die Standard-Citrat-Methode dargestellt wurden, nicht toxisch gegenüber hMSC waren. Das wird durch an Makrophagen durchgeführten Untersuchungen bestätigt. Die Nanopartikel wurden von den Zellen aufgenommen, hatten jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Proliferation. Die Aufnahme erfolgte durch Endocytose.^[184] Im Gegensatz zu der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchung findet sich in der Literatur eine Studie, die zeigte, dass Gold-Nanopartikel auf humane Leberkrebszellen (HuH-7) und auf humane mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark (hBMSC) toxisch wirken.^[221] Beide Zelllinien wurden mit einer Konzentration von etwa $70 \mu\text{g mL}^{-1}$ an Gold-Nanopartikeln inkubiert, die eine Größe von 15 bzw. 30 nm aufwiesen, wobei mehr als 80 % der Zellen überlebten. Nach Zugabe von etwa $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ von 5 nm großen Gold-Nanopartikeln sank der Anteil der lebenden Zellen auf 60 %. Die Mortalität steigt also mit abnehmender Größe der Nanopartikel.^[221] *Jahnen-Dechent et al.* beschreiben ebenfalls eine Partikelgrößenabhängigkeit der Toxizität. Es wurden Gold-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 0,8 bis 15 nm untersucht, welche durch Derivate des TPPTS-Liganden stabilisiert worden waren. Es wurden menschliche Epithelzellen eines Cervixkarzinoms (HeLa) und menschliche Hautmelanomzellen (SK-Mel-28) mit den Gold-Nanopartikeln inkubiert. Es konnte gezeigt werden, dass ausschließlich die 1 bis 2 nm großen Nanopartikel auf diese Zelllinien toxisch wirkten.^[138] Gold-Nanopartikel, welche Glutathion-funktionalisiert worden waren, zeigten bei vergleichbarer Nanopartikelgröße keine Toxizität. Die Toxizität kleinerer Nanopartikel wird der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (*Reactive oxygen species*, ROS), zugeschrieben.^[222] Das chemotaktische Verhalten wurde in dieser Arbeit durch die Zugabe an Gold-Nanopartikeln nicht beeinflusst. Die Freisetzung der Interleukine 6 und 8 stieg nach der Inkubation mit den Nanopartikeln deutlich an. Die Zellen reagierten deutlich auf die Zugabe der Nanopartikel. Die Freisetzung des Interleukins-11 und des Wachstumsfaktors VEGF wurden nicht signifikant durch die Nanopartikel induziert. Die Ergebnisse werden durch Untersuchungen zur erhöhten Freisetzung der

Interleukine 6 und 11 durch Makrophagen bestätigt.^[184] Ebenso findet sich in der Literatur die Gold-Nanopartikel induzierte Freisetzung des Interleukins-6 durch das Knochenmark von Mäusen. In dieser Studie wurden ebenfalls nach der Methode nach *Turkevich et al.* kugelförmige Gold-Nanopartikel mit einem Partikeldurchmesser von 10 nm verwendet, die mit einem Cystein enthaltenen Peptid funktionalisiert worden waren.^[223] Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen wird berichtet, dass sich keine Gold-Nanopartikel induzierte Freisetzung von proinflammatorischen Cytokinen, z.B. TNF- α oder IL-1 β , insbesondere bei hohen Nanopartikelkonzentrationen, nachweisen lässt.^[224] Die in dieser Untersuchung verwendeten Nanopartikel wurden durch Reduktion der Tetrachlorogoldsäure mittels Natriumborhydrid dargestellt und durch Lysin oder Poly-L-Lysin (PLL) stabilisiert. Der Durchmesser dieser Partikel lag zwischen 3 und 8 nm.^[224] Ferner sind auch Silber-Nanopartikel in der Lage, die Freisetzung des Interleukins-8 in humanen mesenchymalen Stammzellen zu induzieren.^[190] Sowohl die erhaltenen als auch die in der Literatur zugänglichen Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass auch zukünftig eine erhöhte Relevanz besteht, den Einfluss von Nanopartikeln auf Zellen weiter zu untersuchen. Dabei spielen die Art der Zelllinie, unterschiedliche Materialien, Morphologien und Größen der Nanopartikel sowie ihre Oberflächenfunktionalisierung eine große Rolle.

5.6. Untersuchung einer bimodalen Dispersion aus Gold- und Silber-Nanopartikeln

Metallische Nanopartikel sind in gegenwärtigen Materialforschung von hohem Interesse, da sie ein hohes Potential für Anwendungen in der Biomedizin, Energieumwandlung, Bildgebung oder als Pigmente besitzen.^[225, 226]

Die Größe der Nanopartikel spielt eine kritische Rolle, da sie die physikalischen und biologischen Eigenschaften beeinflusst.^[227-231] In einer Dispersion, insbesondere in Wasser, sind zwei Fälle zu unterscheiden. In dem ersten Fall kann das dispergierte Material aus agglomerierten Nanopartikeln bestehen, die eine effektive Größe von einigen μm besitzen. Im zweiten Fall kann das dispergierte Material aus einzelnen Partikeln bestehen, deren Größe einige nm betragen. Die durchschnittliche Partikelgröße sowie die Größenverteilung sind wichtige Parameter für die Charakterisierung von Dispersionen von metallischen Nanopartikeln, welche gewöhnlich nicht monodispers vorliegen. Oft finden sich nur elektronenmikroskopische Aufnahmen der Nanopartikel, die jedoch nur eine geringe bis keine Aussage darüber enthalten, wie die Probe im dispergierten Zustand vorgelegen hat. Hinzu kommt, dass sie meist nur einen Ausschnitt der Probe zeigen und somit nicht die gesamte Probe widerspiegeln. Andere ergänzende Methoden werden manchmal verwendet. Hierzu zählt z.B. die Dynamische Lichtstreuung. Die Dynamische Lichtstreuung hat allerdings den Nachteil, dass sie sehr leicht Artefakte generiert, da große Partikel das Licht viel stärker streuen als kleine Partikel. Das kann zu irreführenden Ergebnissen führen, insbesondere dann, wenn die Probe nicht streng monodispers, d.h. mit Partikeln unterschiedlicher Größe, vorliegt. Zudem kann auch eine unterschiedliche geometrische Form der Partikel ein falsches Ergebnis hervorrufen. Hinzu kommt, dass die Ergebnisse, die aus der Untersuchung der Probe mittels Dynamischer Lichtstreuung erhalten werden, unterschiedlich analysiert werden können. Das führt zu unterschiedlich breiten Größenverteilungen, deren Maximum eine veränderte Lage aufweist.

Dieckmann et al. haben die Grenzen unterschiedlicher Analysemethoden, wie Transmissionselektronenmikroskopie, Dynamische Lichtstreuung, analytische Ultrazentrifugation und Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung an dem Beispiel von ZnS-Nanopartikeln aufgezeigt.^[232]

Bootz et al. charakterisierten Polyalkylcyanoacrylat-Nanopartikel, die mit Poloxamer 188 stabilisiert wurden, mittels Rasterelektronenmikroskopie, Dynamischer Licht-

streuung und analytischer Ultrazentrifugation. Sie stellten heraus, dass das Zusammenspiel aller drei Methoden zu einem guten Ergebnis bezüglich der Größe der Nanopartikel führte.^[233]

Lange et al. haben verschiedene multimodale Polymer-Nanopartikel-Dispersionen mittels Elektronenmikroskopie, Ultra- und Scheibenzentrifugation sowie Dynamischer Lichtstreuung untersucht. Die besten Ergebnisse lieferte die Zentrifugation hinsichtlich der Größenverteilung und der prozentualen Verhältnisse der multimodalen Proben.^[234]

Planken et al. haben durch die Verwendung von Silica-Nanopartikel die Grenzen der Dynamischen Lichtstreuung im Vergleich zur analytischen Ultrazentrifugation und Transmissionselektronenmikroskopie herausgestellt.^[235]

Dennoch stellt die Dynamische Lichtstreuung eine wichtige Methode dar, um das Verhalten von Nanopartikel-Dispersionen in biologischen Medien zu beurteilen. Zudem ist es möglich, durch diese Methode die Oberflächenladung der Partikel zu bestimmen, die eine wichtige Kenngröße für die Aufnahme in Zellen darstellt. *Hussain et al.* schätzten die Toxizität verschiedener Nanopartikel mittels Dynamischer Lichtstreuung und Transmissionselektronen-mikroskopie ab. Im Vergleich zu anderen Methoden ist die Dynamische Lichtstreuung in der Lage herauszustellen, in wieweit Veränderungen bezüglich der Größe der Partikel die Toxizität beeinflussen. Es wurde gezeigt, dass es notwendig ist komplexere Charakterisierungsmethoden für Studien zur Toxizität zu verwenden und, dass eine einzige Methode für die Untersuchung nicht ausreichend ist.^[231]

Landsiedel et al. sehen einen Einsatz von unterschiedlichen Methoden zur Charakterisierung als zwingend erforderlich an.^[236] Sie geben der Transmissionselektronenmikroskopie und der analytischen Scheibenzentrifugation eine höhere Wertigkeit als der dynamischen Lichtstreuung. Die Dynamische Lichtstreuung ist nur bei einer bekannten engen Größenverteilung, welchen durch andere Methoden ermittelt wurde, eine geeignete Analysenmethode.

Cumberland und Lead untersuchten das Agglomerationsverhalten von Silber-Nanopartikeln in unterschiedlichen umweltrelevanten Medien mit unterschiedlichen Methoden und stellten heraus, dass eine Vielzahl von Methoden zu vollständigen Charakterisierung erforderlich ist.^[237]

Um die Möglichkeiten und die Abweichungen zwischen verschiedenen Methoden zur Charakterisierung zu untersuchen, insbesondere für den Fall eines bimodalen

Gemisches von metallischen Nanopartikeln, wurden PVP-stabilisierte Silber-Nanopartikel (70 nm), PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel (15 nm) und ein 1:1-Gemisch beider Nanopartikel synthetisiert und charakterisiert. Hierbei kamen die Rasterelektronenmikroskopie, die Transmissionselektronenmikroskopie, die Dynamische Lichtstreuung, die *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) und die Analytische Scheibenzentrifugation zum Einsatz.

Die in diesem Kapitel beschriebenen Arbeiten wurden zusammen mit Herrn Dipl.-Chem. Jörg Diendorf von der Universität Duisburg-Essen durchgeführt. Die NTA-Untersuchungen führte Herr Dr. Götz Hoffmann von der Firma Schaefer Technologie GmbH durch. Die transmissionsmikroskopischen Aufnahmen erfolgten durch Herrn Dr. Wolfgang Meyer-Zaika von der Universität Duisburg-Essen.

In diesem Kapitel werden die Unterschiede zwischen den einzelnen Methoden herausgestellt und deren Fähigkeit zur Unterscheidung zwischen Silber- und Gold-Nanopartikeln in einem Gemisch aufgezeigt. Durch die Elektronenmikroskopie ergibt sich ein direktes Abbild eines Teils einer Probe. Abbildung 106 zeigt charakteristische rasterelektronen- und transmissionselektronenmikroskopische Bilder von reinen Silber- und Gold-Nanopartikeln, sowie eines 1:1-Gemisches aus Silber- und Gold-Nanopartikeln. Die Rasterelektronenmikroskopie ist in der Lage, größere Nanopartikel zu detektieren. Für den Fall der Gold-Nanopartikel war die Grenze der Detektion nahezu erreicht, wenngleich theoretisch die Detektionsgrenze bei etwa 2 nm bei dem verwendeten Gerät liegen sollte. Dies gilt allerdings nur für eine idealisierte Probe, d.h. ohne störende Einflüsse wie z.B. Polymere, Liganden oder Tenside, die für die Stabilisierung der Nanopartikel in einer Dispersion notwendig sind. Innerhalb der Detektionsgrenzen sind die Größe und die Gestalt der Nanopartikel leicht feststellbar, auch für den Fall des Gemisches. Die Quantifizierung der Partikelverhältnisse in dem Gemisch gestaltet sich schwierig durch die mögliche Bildung von Agglomeraten. Hinzu kommt, dass sich kleinere Nanopartikel unter größeren Partikeln oder etwa auf ihrer Oberfläche befinden können. Die Quantifizierung der elektronenmikroskopischen Daten kann durch das Auszählen von Partikeln gleicher Größe erfolgen.

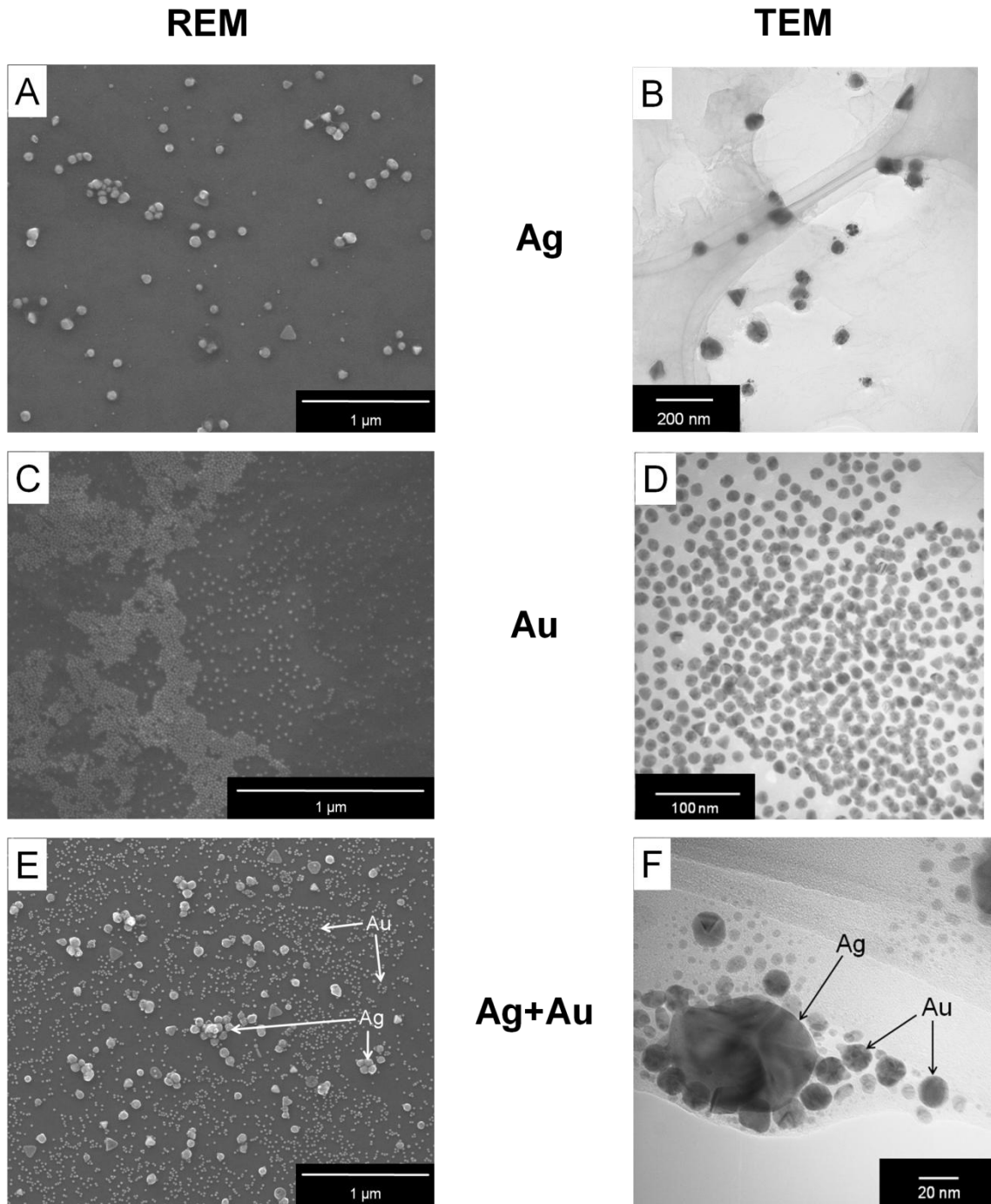


Abbildung 106: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Silber-Nanopartikeln, Gold-Nanopartikeln und einem 1:1-Gemisch aus Silber- und Gold-Nanopartikeln.

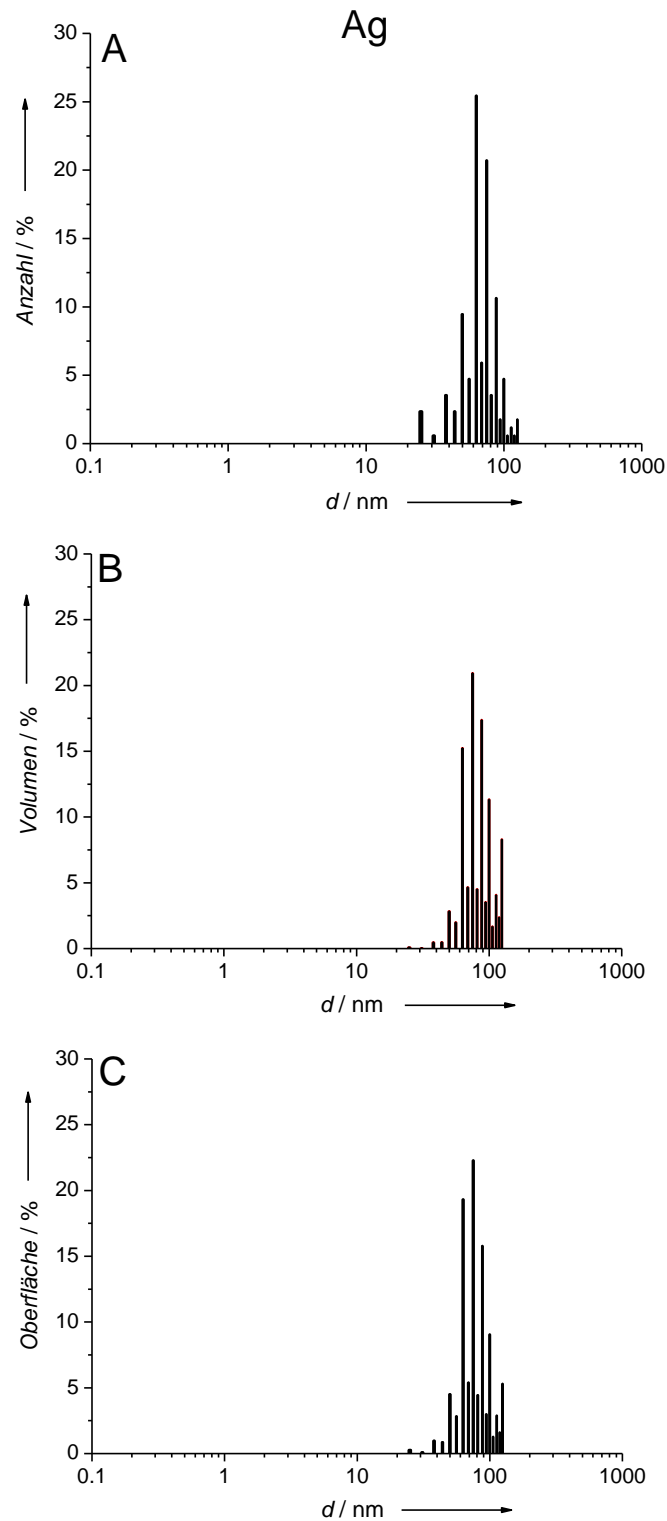


Abbildung 107: Größenverteilung der Silber-Nanopartikel, ermittelt aus den rasterelektronenmikroskopischen Daten durch visuelle Analyse. Die Größenverteilung wird bezogen auf die Anzahl (A), das Volumen (B) und die Oberfläche der Partikel (C) dargestellt. Der jeweils größte gefundene Partikeldurchmesser wurde für die Berechnungen verwendet. Die Berechnung erfolgte unter der Annahme einer Kugelform für die Silber-Nanopartikel.

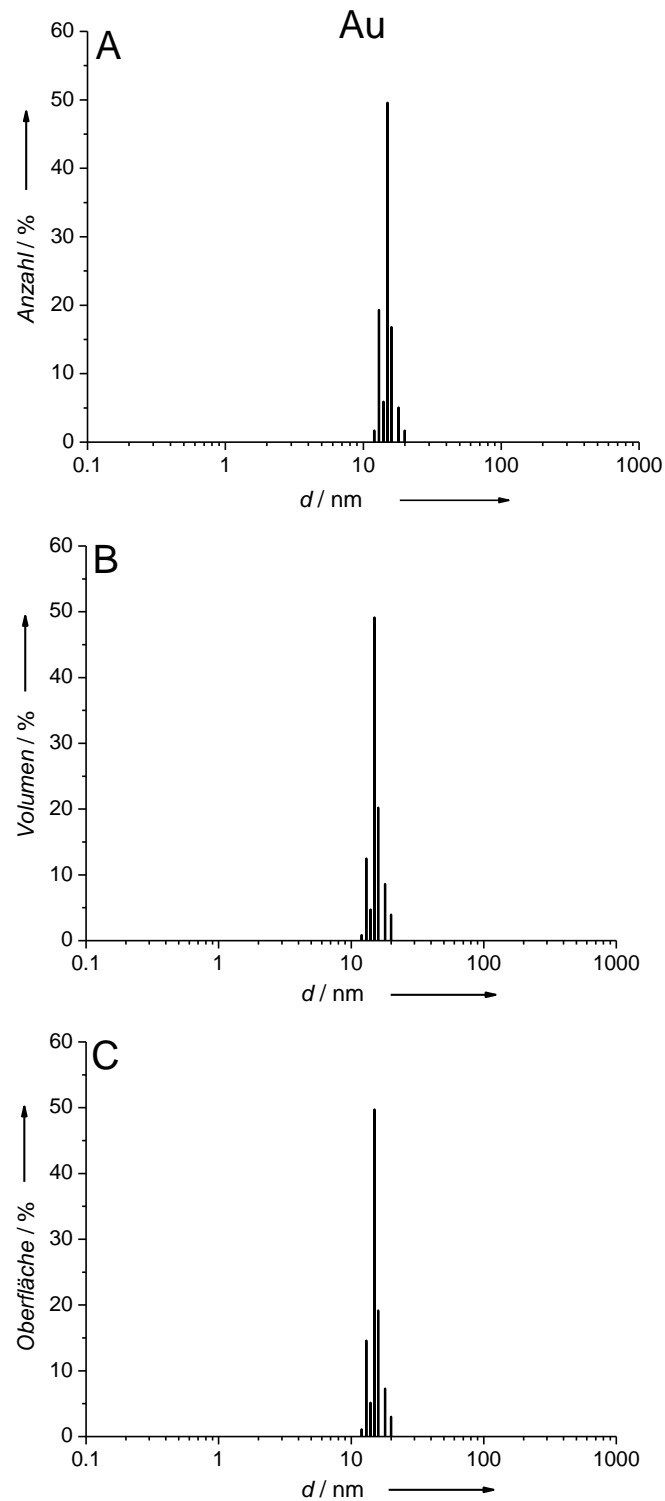


Abbildung 108: Größenverteilung der Gold-Nanopartikel ermittelt aus den transmissionselektronenmikroskopischen Daten durch visuelle Analyse. Die Größenverteilung wird bezogen auf die Anzahl (A), das Volumen (B) und die Oberfläche der Partikel (C) dargestellt. Der jeweils größte gefundene Partikeldurchmesser wurde für die Berechnungen verwendet. Die Berechnung erfolgte unter der Annahme einer Kugelform für die Gold-Nanopartikel.

Die Abbildung 107 zeigt die Ergebnisse, die für die Silber-Nanopartikel mittels Rasterelektronenmikroskopie erhalten wurden, Abbildung 108 die Ergebnisse für die Gold-Nanopartikel, die mittels Transmissionselektronenmikroskopie erhalten wurden. Die durchschnittliche Größe für die Silber-Nanopartikel beträgt 70 ± 19 nm und für die Gold-Nanopartikel $15 \pm 1,5$ nm. Es wurden zwischen 100 und 200 Partikel ausgezählt und das Maximum des durchschnittlichen Durchmessers sowie die Standardabweichung berechnet. Die Elektronenmikroskopie trifft nur eine Aussage über den Durchmesser des metallischen Kerns der Nanopartikel, da die hydratisierte Polymerhülle im Hochvakuum kollabiert. Zudem kann mittels Elektronenmikroskopie keine Aussage bezüglich der Agglomeration der Partikel getroffen werden, da diese auch im Verlaufe des Trocknungsprozesses der Probe eingesetzt haben kann. Die Dynamische Lichtstreuung ermittelt die Größenverteilung der Partikel in der Dispersion. Diese beruht auf der Brown'schen Molekularbewegung, welche durch die Rayleigh-Streuung an den dispergierten Partikeln beobachtet wird. Wie die Abbildung 109 zeigt, erhält man durch die Dynamische Lichtstreuung sinnvolle Ergebnisse für die Größenverteilung der reinen Silber- und Gold-Nanopartikel, jedoch ist diese Methode nicht in der Lage, in dem Gemisch zwischen Silber- und Gold-Nanopartikeln zu unterscheiden. Das Ergebnis entspricht der reinen Silber-Probe. Der Grund ist die Tatsache, dass die Streuintensität der dispergierten Partikel mit der sechsten Potenz des Partikeldurchmessers zunimmt. Das kann dazu führen, dass einige größere Partikel eine Vielzahl von kleineren Partikeln verdecken. Die Dynamische Lichtstreuung misst die Streulichtintensität, ausgehend von der Rayleigh-Streuung. Unter einer Vielzahl von Annahmen, wie z.B. einer monomodalen Größenverteilung und eines kugelförmigen Systems, ist es möglich, unterschiedliche Partikelgrößenverteilungen zu berechnen. Hierzu zählen die Größenverteilungen bezogen auf die Streulichtintensität, das Volumen der Partikel oder die Anzahl der Partikel.^[238] Es ist bemerkenswert, dass diese Größenverteilungen alle unterschiedlich sind. Der Grund liegt in der Tatsache, dass die oben gemachten Annahmen für eine bimodale Probe nicht genügen. Der Z-Average gibt nur einen groben Wert für die durchschnittliche Partikelgröße. Allgemein sind die erhaltenen Werte für die durchschnittliche Partikelgröße deutlich größer als die für die getrockneten Metallkerne der Partikel. Der Grund liegt in dem Beitrag des Citrats als Stabilisator und der Hydrathülle, die dazu führen, dass der hydrodynamische Durchmesser ermittelt wird. Abhängig von der Art der Darstellung der Partikelgrößenverteilung, z.B. bezogen auf die Streulicht-

intensität, das Volumen oder die Anzahl der Partikel, unterscheiden sich die Werte für das Maximum in der Partikelgrößenverteilung mit dem Faktor 2 bis 4. Die Ergebnisse sind in Tabelle 48 zusammengestellt.

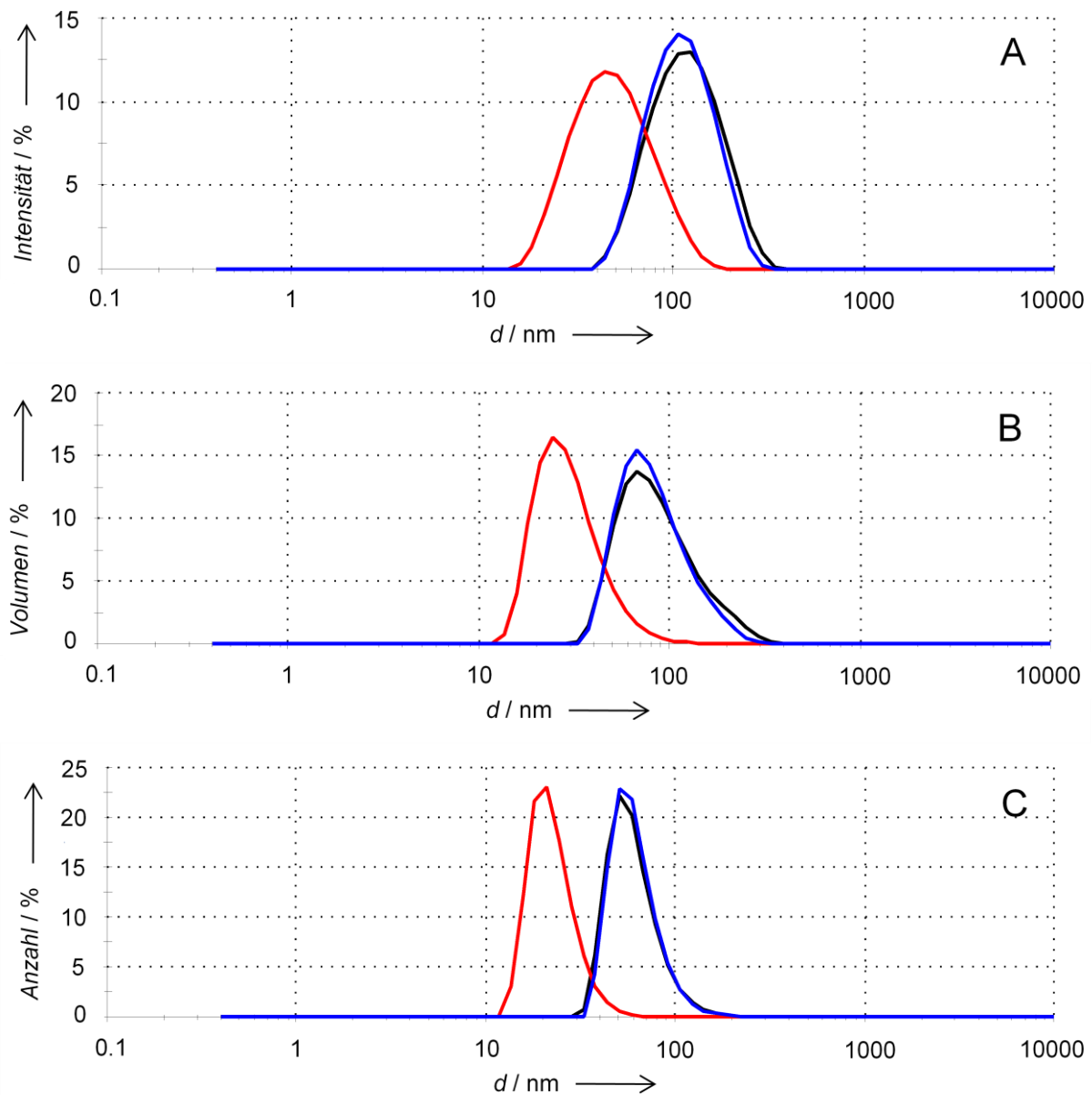


Abbildung 109: Charakterisierung der Silber-Nanopartikel (schwarz), Gold-Nanopartikel (rot) und eines 1:1 Gemisches aus Silber- und Gold-Nanopartikeln (blau) mittels Dynamischer Lichtstreuung. Die Größenverteilung ist bezogen auf die Streulichtintensität (A), das Volumen der Partikel (B) und die Anzahl der Partikel (C) dargestellt.

Die Dynamische Lichtstreuung ermöglicht zudem die Bestimmung des Zetapotentials von geladenen, dispergierten Nanopartikeln. In dem Gemisch aus Silber- und Gold-

Nanopartikeln konnte nur der Wert für das Zetapotential der größeren Silber-Nanopartikel bestimmt werden, was die Tatsache bekräftigt, dass größere Partikel das Streusignal der kleineren Partikel vollständig überlagern.

Die *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) beruht auf der visuellen Verfolgung der Brown'schen Molekularbewegung von Nanopartikeln als Funktion der Zeit. Hierbei bewegen sich kleine Partikel schneller als große. Die Untersuchung einer großen Anzahl von Partikeln erlaubt es, ein Gemisch von großen und kleinen Partikeln zu analysieren. Für die reinen Silber- und Gold-Nanopartikel ergab die Analyse zufriedenstellende Ergebnisse. Die Partikelgrößenverteilungen waren breiter als jene, die durch die anderen Methoden herausgestellt worden sind. Wie im Fall der Dynamischen Lichtstreuung war es nicht möglich, in dem Gemisch zwischen Silber- und Gold-Nanopartikeln zu unterscheiden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 110 dargestellt. Hinzu kommt, dass die Anzahl der verfolgten Partikel begrenzt ist und die Probe stark verdünnt untersucht werden musste.

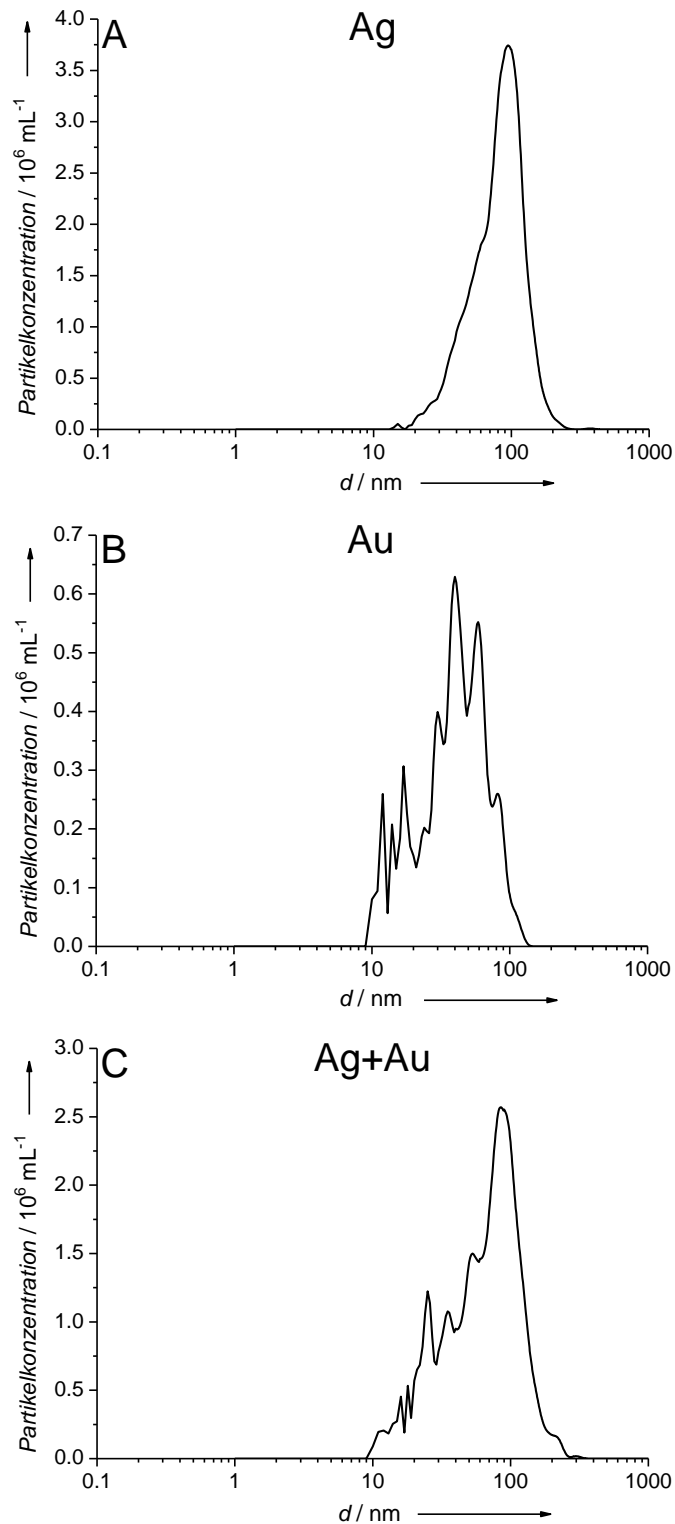


Abbildung 110: Charakterisierung der Silber-Nanopartikel (A), Gold-Nanopartikel (B) und eines 1:1Gemisches aus Silber- und Gold-Nanopartikeln (C) mittels *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA). Die Größenverteilung ist bezogen auf die Anzahl der Partikel dargestellt.

Die Analytische Scheibenzentrifugation basiert auf der Sedimentation von Partikeln unter dem Einfluss der Zentrifugalkraft. Hierbei ist es notwendig, die Nanopartikel in einer hoch konzentrierten Zuckerlösung, die über einen Dichtegradienten verfügt, zu dispergieren. Die Partikel bewegen sich radial zum äußeren Scheibenrand, wo sie durch die Absorption oder Streuung eines einfallenden Laserstrahls detektiert werden. Diese Art der Detektion kann nicht auf einfache Weise auf die Anzahl oder Größe der Partikel bezogen werden. Abbildung 111 verdeutlicht, dass es möglich ist, mittels Analytischer Scheibenzentrifugation große und kleine Partikel zu unterscheiden. Ferner sind die durchschnittlichen Partikelgrößen mit den elektronenmikroskopischen Daten vergleichbar. Der Partikeldurchmesser ist hierbei geringer als der durch die Elektronenmikroskopie ermittelte. Der Grund liegt in einer geringeren Dichte der Polymer-stabilisierten Silber- und Gold-Nanopartikel im Vergleich zu den reinen, unfunktionalisierten metallischen Nanopartikeln. In den Experimenten wurde die Dichte für reines Silber bzw. reines Gold angenommen, weil es schwierig ist, den Einfluss des Polymers und der Dicke der Polymerhülle auf die hydrodynamische Dichte abzuschätzen. Hinzu kommt, dass die Polymer- und Hydrathülle ebenso wie die Zuckerlösung eine Bremswirkung auf die Nanopartikel in der Scheibenzentrifuge ausüben. In dem hier behandelten Fall der Analyse des 1:1-Gemisches aus Silber- und Gold-Nanopartikeln entstand das Problem, dass von einer gemittelten Dichte für beide Metalle ausgegangen werden musste. Die Analytische Scheibenzentrifuge ist nur in der Lage einen Wert zu verwenden, und nicht zwei verschiedene Werte für die Dichte. Als Kompromiss wurde in dieser Arbeit ein Durchschnittswert beider Dichten verwendet, was die Größe der Nanopartikel bei der Analyse des Gemisches beeinflusst.

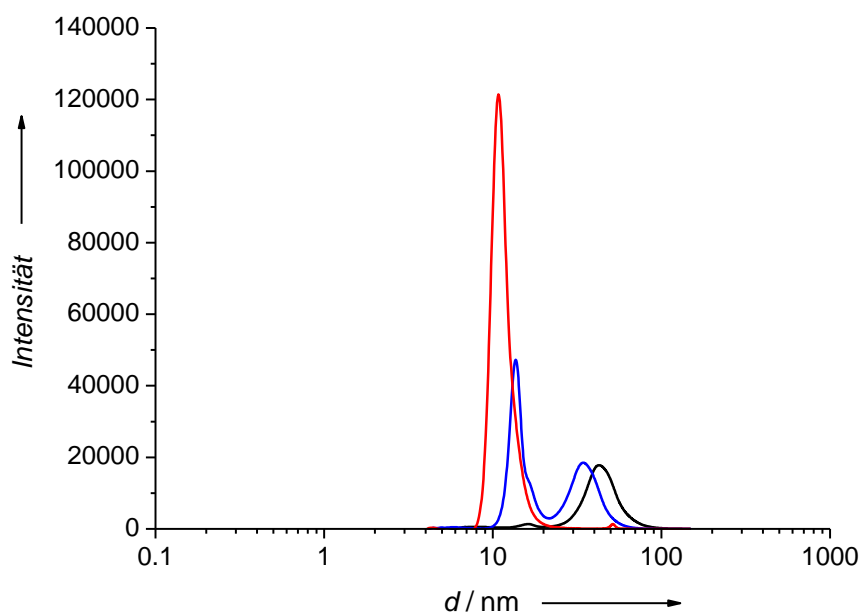


Abbildung 111: Charakterisierung der Silber-Nanopartikel (schwarz), Gold-Nanopartikel (rot) und eines 1:1Gemisches aus Silber- und Gold-Nanopartikeln (blau) mittels Analytischer Scheibenzentrifugation.

Es wurde zudem eine theoretische Betrachtung der Dispersion durchgeführt. Ausgehend von einem durchschnittlichen Durchmesser von 15 nm für die Gold-Nanopartikel und der Annahme einer kugelförmigen Gestalt, beträgt das Volumen eines Partikels 1767 nm^3 . Mit der Dichte des Goldes von 19320 kg m^{-3} lässt sich eine Masse pro Partikel von $3,41 \cdot 10^{-20} \text{ kg}$ berechnen. Für kugelförmige Silber-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 70 nm erhält man ein Volumen pro Partikel von $1,8 \cdot 10^5 \text{ nm}^3$. Mit der Dichte von 10500 kg m^{-3} ergibt sich eine Masse pro Partikel von $1,89 \cdot 10^{-18} \text{ kg}$. In dem Gemisch aus Silber- und Gold-Nanopartikeln waren jeweils $18,65 \text{ mg L}^{-1}$ von jedem Metall enthalten, so dass die Partikelkonzentration für Silber $9,87 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$ und für Gold $5,45 \cdot 10^{14} \text{ L}^{-1}$ beträgt. Daraus ergibt sich ein Verhältnis für die Anzahl der Partikel von 1:55 für das Verhältnis Ag:Au (1,8 %:98,2 %). Die Volumenanteile der Nanopartikel betragen für Silber $1,78 \cdot 10^{18} \text{ nm}^3 \text{ L}^{-1} = 1,78 \cdot 10^{-6}$ und für Gold $9,63 \cdot 10^{17} \text{ nm}^3 \text{ L}^{-1} = 9,63 \cdot 10^{-7}$. Daraus ergibt sich ein Volumenverhältnis von 1:0,54 für das Verhältnis von Ag:Au (65 %:35 %). Zu berücksichtigen ist, dass die Volumenwerte auf den Durchmessern der reinen Metallkerne basieren. Im Falle des hydrodynamischen Durchmessers, der mittels Dynamischer Lichtstreuung, *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) und Analytischer Scheibenzentrifugation

ermittelt wurde, ist das Verhältnis ein anderes. In der Dynamischen Lichtstreuung nimmt die Streuintensität der Partikel mit der 6. Potenz des Durchmessers zu. Das führt dazu, dass ein Silber-Nanopartikel (70 nm) genau so viel Licht streut wie etwa 24000 Gold-Nanopartikel (13 nm). Die absolute Streuintensität aller in dem Gemisch enthaltenen Silber-Nanopartikel ist um 180 Mal größer als die aller Gold-Nanopartikel.

Die Tabelle 51 verdeutlicht, dass es mittels Dynamischer Lichtstreuung und *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) nicht möglich ist, Werte für die bimodale Partikelgrößenverteilung zu generieren. Beide elektronenmikroskopische Methoden ergeben annähernd identische Werte für die Partikelgrößenverteilung, mit einem etwas geringeren Wert für die Gold-Nanopartikel als erwartet. Der Grund könnte in den viel kleineren Gold-Nanopartikel liegen, die sich entweder unter den Silber-Nanopartikeln oder auf deren Oberfläche befinden. Die Analytische Scheibenzentrifugation ist in der Lage, zwischen großen und kleinen Nanopartikeln in einem Gemisch zu unterscheiden, jedoch ergibt eine quantitative Analyse keine sinnvollen Werte für die Verteilung. Die Unsicherheiten, die sich durch die Geräte ergeben, sind größer als die experimentelle Reproduzierbarkeit. Diese oft vernachlässigte Tatsache verdeutlicht, dass der Unterschied zwischen zwei unterschiedlich durchschnittlichen Durchmessern oftmals nicht signifikant ist.

Es ist erwähnenswert, dass weitere mögliche Methoden zur Partikelgrößenverteilung, welche in dieser Arbeit weder benutzt noch diskutiert wurden, zur Verfügung stehen. Dazu zählen die Analytische Ultrazentrifugation,^[232, 235, 239] die Asymmetrische Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AFFFF)^[232] sowie die Kleinwinkelstreuung von Röntgenstrahlen^[240] oder Neutronen.^[241, 242] All diese Methoden finden eine untergeordnete Verwendung zur Charakterisierung von Nanopartikeln.

Es ist zudem zu berücksichtigen, dass die Dynamische Lichtstreuung mit einem Festwinkeldetektor, welche als kommerzielles Gerät erhältlich ist und in dieser Arbeit verwendet wurde, nur begrenzte Informationen bezüglich der Partikelgrößenverteilung ausgibt. Wird hingegen die Messung bei unterschiedlichen Winkeln durchgeführt, so erhält man aus den unterschiedlichen Streusignalen deutlich mehr Informationen. Das erlaubt eine verbesserte Unterscheidung der Partikel in einem polydispersen System. In der Literatur wird dies eindeutig belegt,^[243, 244] jedoch ist diese Methode leider keine Standardmethode zur Charakterisierung von Nanopartikel-Dispersionen.

Tabelle 45: Zusammenfassung der Ergebnisse der Charakterisierung der Silber-Nanopartikel, Gold-Nanopartikel und eines 1:1-Gemisches aus Silber- und Gold-Nanopartikeln durch unterschiedliche Methoden.

Methode	Durchmesser	Durchmesser	Ag-Nanopartikel	Au-Nanopartikel	1:1-Gemisch aus Ag- und Au-Nanopartikeln
REM	Anzahl		70±19 nm	13 nm	72-97 nm (Ag; 5 % Anzahl) 12 nm (Au; 95 % Anzahl)
TEM	Anzahl		18-72 nm	15±1,5 nm	43-112 nm (Ag; 7 % Anzahl) 13 nm (Au; 93 % Anzahl)
DLS	Anzahl		63±21 nm	22±7 nm	55±20 nm
		Intensität	124±50 nm	52±23 nm	121±48 nm
		Volumen	94±47 nm	30±13 nm	86±41 nm
		Z-Average	102 nm	42 nm	121 nm
		Zetapotential	-36±2 mV	-57±7 mV	-34±1 mV
		Polydispersitätsindex (PDI)	0,173	0,207	0,171
NTA	Anzahl		95±36 nm	57±28 nm	87±45 nm (Durchschnitt)
Scheiben-zentrifugation	Anzahl		40±19 nm	11±3 nm	
		Gewicht	48±23 nm	13±3 nm	34±16 nm (Ag; 66% Intensität) 13±3 nm (Au; 34% Intensität)
		Oberfläche	43±20 nm	12±3 nm	
Theorie	Anzahl		70 nm	15 nm	(Au: 98.2% Ag: 1.8%)
		Volumen	70 nm	15 nm	(Au: 35% Ag: 65%)

5.6.1. Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchung einer bimodalen Dispersion aus Gold- und Silber-Nanopartikeln

In diesem Kapitel dieser Arbeit wurden reine Silber-Nanopartikel, reine Gold-Nanopartikel sowie ein 1:1 Gemisch beider Metalle mit verschiedenen Methoden charakterisiert. Hierbei wurden unterschiedliche Ergebnisse für dieselbe gut definierte Probe von Nanopartikeln erhalten, was durch die Erkenntnisse aus der Literatur für andere Systeme unterstützt wird.^[232, 235] Der Grund liegt in der Tatsache, dass alle Methoden auf unterschiedlichen physikalische Prinzipien und/oder Detektionsmethoden beruhen. Im Gegensatz zu den übrigen verwendeten Methoden untersuchen die elektronenmikroskopischen Methoden getrocknete Partikel. Das bedeutet, dass ausschließlich der metallische Kern analysiert wird. Die übrigen Methoden bestimmen den hydrodynamischen Durchmesser, welcher in jedem Fall größer ausfällt. Eine Abweichung bis hin zu einem Faktor von 3 ist möglich, wenn zwei unterschiedliche Methoden miteinander verglichen werden. Hierbei ist darauf zu achten, dass gleiche Durchschnittswerte der Partikelgrößenverteilung miteinander verglichen werden, z.B. bezogen die Streulichtintensität, das Partikelvolumen oder die Anzahl der Partikel. Die Situation wird komplexer, wenn der Durchschnittswert der Partikelgrößenverteilung eines polydispersen Systems angegeben wird. Grundsätzlich sollte eine Überprüfung der Partikelgrößenverteilung in dem gleichen Maße erfolgen wie die Analyse des Systems, da verschiedene Durchschnittswerte, wie z.B. bezogen auf die Streulichtintensität, das Partikelvolumen oder die Anzahl der Partikel, unterschiedliche Ergebnisse zur Folge haben können.^[238]

Die Tatsache, dass oftmals nur eine Methode für die Charakterisierung verwendet wird, wie z.B. die Transmissionselektronenmikroskopie oder die Dynamische Lichtstreuung, gestaltet es schwierig, Ergebnisse unterschiedlicher Gruppen miteinander zu vergleichen. Das ist insbesondere dann der Fall, wenn biologische Eigenschaften studiert werden. Es sollte ebenso berücksichtigt werden, dass nicht jede Methode in der Lage ist, Agglomerationsphänomene aufzudecken. Diese treten jedoch häufig bei der Dispersion von Nanopartikeln in Zellkulturmedien oder biologischen Flüssigkeiten auf.^[189, 245] In dem untersuchten Gemisch großer Silber-Nanopartikel und kleiner Gold-Nanopartikel konnten einige Methoden die kleineren Partikel nicht detektieren. Dadurch war es möglich, die Anwesenheit der kleineren Nanopartikel leicht zu übersehen. Die Elektronenmikroskopie war die einzige Methode, welche die Anzahl von Silber- und Gold-Nanopartikeln in dem Gemisch quantifizieren konnte. In der

Literatur werden zahlreiche größenabhängige Effekte bezogen auf die Verteilung von metallischen Nanopartikeln innerhalb des Körpers und die damit verbundene Toxizität beschrieben.^[138, 184, 228, 246-248] Es kann nicht immer ausgeschlossen werden, dass kleinere nicht detektierte Nanopartikel die biologische Reaktion anstelle der größeren Nanopartikel verursacht haben. Es ist daher notwendig eine Reihe von Methoden zur Charakterisierung eines Systems zu verwenden, um eine aussagekräftige Interpretation von z.B. biologischen Ergebnissen zu erlauben.

6. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, die Auflösung von Gold-Nanopartikeln möglichst in Abhängigkeit von ihrer Größe, Gestalt und Funktionalisierung zu untersuchen. Ergänzend waren die Stabilität in verschiedenen biologischen Medien sowie die Effekte auf humane mesenchymale Stammzellen zu analysieren.

Für die Darstellung mit anschließender Charakterisierung der Gold-Nanopartikel wurden verschiedene Synthesewege verwendet. Unter Zuhilfenahme des Polyol-Prozesses war es möglich, PVP-stabilisierte pyramidale und kugelförmige Formen darzustellen. Hierbei wurde die Tetrachlorogoldsäure mittels Ethylenglycol reduziert und durch das Polymer PVP stabilisiert. Für die Synthese von monodispersen, kugelförmigen Gold-Nanopartikeln wurde als Reduktionsmittel Trinatriumcitrat verwendet. Die mittels Trinatriumcitrat dargestellten Partikel wurden anschließend entweder mit dem Phosphan TPPTS oder durch das Polymer PVP stabilisiert. Diese Partikel waren im Vergleich zum Polyol-Prozess monodispers und mit einer hohen Reinheit darstellbar. Darüber hinaus erfolgte die Synthese des Thiol-Liganden TD₂₀-L. Mit diesem war es möglich, die mittels Natriumcitrat synthetisierten Nanopartikel auf eine weitere Art zu stabilisieren. Ferner wurden Gold-Nanopartikel mit einem Gemisch aus Natriumcitrat und Gerbsäure synthetisiert, was zu einer noch geringeren monodispersen Größe des Goldkerns führte. Diese Nanopartikel konnten ebenso mit dem Phosphan TPPTS oder dem Polymer PVP stabilisiert werden.

Die Untersuchung der Auflösung erfolgte nach drei Prinzipien, mit Hilfe einer Dialysemembran, aus einer Kombination aus einem Agarose-Gel und der Ultrazentrifugation und durch einen Nanofilter. Dabei war eine Vielzahl von Problemen zu lösen, welche die Untersuchung der Gold-Nanopartikel massiv beeinflusst haben. Die Dialysemembran sollte auf der einen Seite aus einem inerten Material bestehen und zusätzlich gewährleisten, dass die Trennung von Gold-Nanopartikeln und Gold-Ionen quantitativ verlief. Das konnte technisch bedingt nur teilweise erfüllt werden. Aus diesem Grund führte die Untersuchung im weiteren Verlauf dieser Arbeit zu einer Kombination aus einem Agarose-Gel und der Ultrazentrifugation. Die vielversprechendste Methode war die Nanofiltration, welche die Voraussetzung erfüllte, die Nanopartikel quantitativ von den Gold-Ionen zu trennen. Zudem war durch die Trennmethode bedingt gewährleistet, dass die zur Trennung eingesetzte Membran einen relativ geringen Einfluss auf die Gold-Ionen ausüben konnte. Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die durch Oxidation

der Gold-Nanopartikel freigesetzte Goldmenge sehr gering, aber dennoch signifikant ist. Verglichen mit der Freisetzung aus einem Gold-Barren ist die Menge des Goldes zwar erhöht, aber als unbedenklich zu sehen, bezogen auf den Einsatz von Gold-Nanopartikeln in biologischen Systemen.

In dieser Arbeit wurde ebenfalls die Stabilität der TPPTS- und PVP-stabilisierten Gold-Nanopartikel, die mittels Citratreduktion dargestellt wurden, in verschiedenen biologischen Medien untersucht. Hierbei konnte festgestellt werden, dass die Nanopartikel in dem reinen Zellkulturmedium RPMI agglomerierten. Der Zusatz verschiedener Proteine, wie z.B. FCS oder BSA, führte zu einer Stabilisierung der Partikel. Es wurde auch versucht, den Anteil des BSA auf der Partikeloberfläche zu bestimmen. Hierbei kamen die Thermogravimetrie und die Elementaranalyse zum Einsatz. Das BSA ist sowohl bei PVP als auch bei TPPTS-stabilisierten Gold-Nanopartikeln näherungsweise in Form einer Monolage auf der Oberfläche gebunden. Ein quantitativer Austausch zwischen dem BSA und dem ursprünglichen Stabilisator ist hingegen in keinem Fall zu beobachten.

Ebenso wurde der Einfluss auf humane mesenchymale Stammzellen analysiert. Dafür wurden PVP-stabilisierte Gold-Nanopartikel verwendet, welche monodispers mittels Natriumcitrat dargestellt worden waren. Es war keine Beeinflussung der Viabilität oder des chemotaktischen Verhaltens der Stammzellen zu erkennen. Jedoch induzierten die Nanopartikel die vermehrte Freisetzung der Interleukine 6 und 8, was eine Aktivierung der Stammzellen anzeigt.

Abschließend erfolgte eine Untersuchung zur Charakterisierung eines bimodalen Gemisches aus Gold- und Silber-Nanopartikeln. Dabei kamen die Elektronenmikroskopie, die Dynamische Lichtstreuung, die *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) und die Analytische Scheibenzentrifugation zum Einsatz. Mit Hilfe dieser Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die verschiedenen verwendeten Methoden unterschiedliche Ergebnisse lieferten. Das führte zu der Folgerung, dass es zwingend notwendig ist, mehr als eine Methode zur Charakterisierung eines nanopartikulären Systems zu verwenden. Das ist insbesondere dann der Fall, wenn man die Effekte von nanoskaligen Systemen in biologischen Systemen untersuchen und beurteilen möchte.

7. Literatur

- [1] X. Chen, H. J. Schluesener, *Toxicol. Lett.* **2008**, 176, 1.
- [2] M. S. Cohen, J. M. Stern, A. J. Vanni, R. S. Kelley, E. Baumgart, D. Field, J. A. Libertino, I. C. Summerhayes, *Surg. Infect.* **2007**, 8, 397.
- [3] D. Roe, B. Karandikar, N. Bonn-Savage, B. Gibbins, J. B. Roullet, *J. Anti-microb. Chemother.* **2008**, 61, 869.
- [4] S. Uhrlandt, A. Blume, *Kautschuk Gummi Kunststoffe* **2001**, 54, 520.
- [5] D. Timmerman, I. Izeddin, P. Stallinga, I. N. Yassievich, T. Gregorkiewicz, *Nat. Photonics* **2008**, 2, 105.
- [6] C. Y. Liu, Z. C. Holman, U. R. Kortshagen, *Nano Lett.* **2009**, 9, 449.
- [7] H. C. van de Hulst, *Light Scattering by Small Particles*, Dover Publications, New York, **1981**.
- [8] W. Umbach, *Kosmetik – Entwicklung, Herstellung und Anwendung kosmetischer Mittel*, Wiley-VCH, Weinheim, **1995**.
- [9] T. Brockmann, P. Fontana, B. Meng, U. Müller, *Beton- Stahlbetonbau* **2008**, 103, 446.
- [10] C. T. Yavuz, J. T. Mayo, W. W. Yu, A. Prakash, J. C. Falkner, S. Yean, L. Cong, H. J. Shipley, A. Kan, M. Tomson, D. Natelson, V. L. Colvin, *Science* **2006**, 314, 964.
- [11] Y. W. Jun, J. H. Lee, J. Cheon, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 5200.
- [12] J. H. Lee, Y. M. Huh, Y. W. Jun, J. W. Seo, J. T. Jang, H. T. Song, S. Kim, E. J. Cho, H. G. Yoon, J. S. Suh, J. Cheon, *Nat. Med.* **2007**, 13, 95.
- [13] A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Schirra, T. Schiestel, H. Schmidt, R. J. Felix, *Magn. Magn. Mater.* **1999**, 194, 185.
- [14] A. Jordan, P. Wust, H. Fahling, W. John, A. Hinz, R. Felix, *Int. J. Hyperthermia* **1993**, 9, 51.
- [15] A. Jordan, K. Maier-Hauff, P. Wust, B. Rau, M. Johannsen, *Onkologe* **2007**, 13, 894.
- [16] C. Alexiou, R. J. Schmid, R. Jurgons, M. Kremer, G. Wanner, C. Bergemann, E. Huenges, T. Nawroth, W. Arnold, F. G. Parak, *Eur. Biophys. J.* **2006**, 35, 446.
- [17] X. Huang, Dissertation, Georgia Institute of Technology, **2006**.
- [18] D. D. Evanoff, G. Chumanov, *Chem. Phys. Chem.* **2005**, 6, 1221.
- [19] H. He, C. Xie, J. Ren, *Anal. Chem.* **2008**, 80, 5951.

-
- [20] N. L. Rosi, D. A. Giljohann, C. S. Thaxton, A. K. R. Lytton-Jean, M. S. Han, C. A. Mirkin, *Science* **2006**, 312, 1027.
 - [21] P. Baptista, E. Pereira, P. Eaton, G. Doria, A. Miranda, I. Gomes, P. Quaresma, R. Franco, *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, 391, 943.
 - [22] J. R. Kalluri, T. Arbneshi, S. A. Khan, A. Neely, P. Candice, B. Varisli, M. Washington, S. McAfee, B. Robinson, S. Banerjee, A. K. Singh, D. Senapati, P. C. Ray, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9848.
 - [23] H. Rashid, T. K. Mandal, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, 18, 2261.
 - [24] M. Comotti, C. Della Pina, R. Matarrese, M. Rossi, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 5936.
 - [25] R. J. Davis, *Science* **2003**, 301, 926.
 - [26] D. W. Wyrwa, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, **2006**.
 - [27] H. D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*, Springer, Berlin, **2002**.
 - [28] F. Kim, S. Connor, H. Song, T. Kuykendall, P. Yang, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 3759.
 - [29] B. Wiley, Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Chem. Eur. J.* **2005**, 11, 454.
 - [30] L. T. Lu, L. D. Tung, I. Robinson, D. Ung, B. Tan, J. Long, A. I. Cooper, D. G. Fernig, N. T. K. Thanh, *J. Mater. Chem.* **2008**, 18, 2453.
 - [31] M. Lattuada, T. A. Hatton, *Langmuir* **2007**, 23, 2158.
 - [32] H. Urch, S. Franzka, D. Dahlhaus, N. Hartmann, E. Hasselbrink, M. Eppele, *J. Mater. Chem.* **2006**, 16, 1798.
 - [33] H. Urch, C. Geismann, M. Ulbricht, M. Eppele, *Materialwiss. Werkstofftech.* **2006**, 37, 422.
 - [34] B. D. Fahlman, *Materials Chemistry*, Springer, Mount Pleasant, **2007**.
 - [35] U. Kreibig, M. Vollmer, *Optical Properties of Metal Clusters*, Springer, New York, **1995**.
 - [36] W. P. Halperin, *Rev. Mod. Phys.* **1986**, 58, 533.
 - [37] G. A. Somorjai, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 1223.
 - [38] L. N. Lewis, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2693.
 - [39] G. Ertl, *Handbook of Heterogeneous Catalysis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**.
 - [40] S. Jeong, K. Woo, D. Kim, S. Lim, J. S. Kim, H. Shin, Y. Xia, J. Moon, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, 18, 679.
 - [41] C. B. Murray, S. Sun, H. Doyle, T. Betley, *MRS Bull.* **2001**, 26, 985.
-

-
- [42] P. K. Jain, I. K. El-Sayed, M. A. El-Sayed, *Nano Today* **2007**, 2, 18.
 - [43] S. E. Skrabalak, J. Chen, L. Au, X. Lu, X. Li, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 3177.
 - [44] S. E. Skrabalak, L. Au, X. Lu, X. Li, Y. Xia, *Nanomedicine* **2007**, 2, 657.
 - [45] L. Au, D. Zheng, F. Zhou, Z. Y. Li, X. Li, Y. Xia, *ACS Nano* **2008**, 2, 1645.
 - [46] Y. Sun, B. Mayers, X. Xia, *Adv. Mater.* **2003**, 15, 641.
 - [47] C. T. Campbell, S. C. Parker, D. E. Starr, *Science* **2002**, 298, 811.
 - [48] M. Valden, X. Lai, D. W. Goodman, *Science* **1998**, 281, 1647.
 - [49] Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 62.
 - [50] V. K. LaMer, R. H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 4847.
 - [51] Y. Xiong, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 3385.
 - [52] U. Dahmen, C. Hetherington, V. Radmilovic, E. Johnson, S. Xiao, C. Luo, *Microsc. Microanal.* **2002**, 8, 247.
 - [53] A. G. Froseth, P. M. Derlet, H. Van Swygenhoven, *Adv. Eng. Mater.* **2005**, 7, 16.
 - [54] I. Washio, Y. Xiong, Y. Yin, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2006**, 18, 1745.
 - [55] B. Lim, P. H. C. Camargo, Y. Xia, *Langmuir* **2008**, 24, 10437.
 - [56] Y. Sun, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2003**, 15, 695.
 - [57] Y. Sun, B. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, *Nano Lett.* **2003**, 3, 955.
 - [58] B. Wiley, T. Herricks, Y. Sun, Y. Xia, *Nano Lett.* **2004**, 4, 1733.
 - [59] Y. Sun, Y. Xia, *Science* **2002**, 298, 2176.
 - [60] D. Yu, V. W.-W. Yam, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 5497.
 - [61] H. Wang, X. Qiao, J. Chen, S. Ding, *Colloids Surf., A* **2005**, 256, 111.
 - [62] P. C. Lee, D. Meisel, *J. Phys. Chem. B* **1982**, 86, 3391.
 - [63] Z. Gryczynski, J. Lukomska, J. R. Lakowicz, E. G. Matveeva, I. Gryczynski, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, 421, 189.
 - [64] X. Y. Dong, X. H. Ji, H. L. Wu, L. L. Zhao, W. S. Yang, *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 6573.
 - [65] S. D. Solomon, M. Bahadory, A. V. Jeyarajasingam, S. A. Rutkowsky, J. Boritz, *J. Chem. Educ.* **2007**, 84, 322.
 - [66] N. Shirtcliffe, U. Nickel, S. Schneider, *J. Colloid Interface Sci.* **1999**, 211, 122.
 - [67] T. Deckert-Gaudig, F. Erver, V. Deckert, *Langmuir* **2009**, 25, 6032.
 - [68] G. Schmid, *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1709.
 - [69] H. G. Scheibel, J. Porstendörfer, *J. Colloid Interface Sci.* **1986**, 109, 275.
-

-
- [70] A. Henglein, M. Giersig, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 9533.
- [71] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 15700.
- [72] Z. Zhang, B. Zhao, L. Hu, *J. Solid State Chem.* **1995**, *121*, 105.
- [73] Y. Sun, Y. Yin, B. T. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 4736.
- [74] Y. Gao, P. Jiang, L. Song, L. Liu, X. Yan, Z. Zhou, D. Liu, J. Wang, H. Yuan, Z. Zhang, X. Zhao, X. Dou, W. Zhou, G. Wang, S. Xie, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2005**, *38*, 1061.
- [75] C. Ducamp-Sanguesa, R. Herrera-Urbina, M. Figlarz, *J. Solid State Chem.* **1992**, *100*, 272.
- [76] S. H. Im, Y. T. Lee, B. Wiley, Y. Xia, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2154.
- [77] D. Yu, V. W. W. Yam, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13200.
- [78] A. R. Siekkinen, J. M. McLellan, J. Chen, Y. Xia, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *432*, 491.
- [79] C. Ni, P. A. Hassan, E. W. Kaler, *Langmuir* **2005**, *21*, 3334.
- [80] N. R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy, *Chem. Commun.* **2001**, 617.
- [81] C. J. Murphy, T. K. Sau, A. M. Gole, C. J. Orendorff, J. Gao, L. Gou, S. E. Hunyadi, T. Li, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 13857.
- [82] Y. Sun, Y. Xia, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 833.
- [83] T. C. Deivaraj, N. L. Lala, J. Y. Lee, *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *289*, 402.
- [84] I. O. Sosa, C. Noguez, R. G. Barrera, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 6269.
- [85] J. J. Mock, M. Barbic, D. R. Smith, D. A. Schultz, S. Schultz, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 6755.
- [86] A. L. Gonzalez, C. Noguez, G. P. Ortiz, G. Rodriguez-Gattorno, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 17512.
- [87] A. L. Gonzalez, C. Noguez, *Physics* **2006**, *1*.
- [88] C. J. Murphy, *Science* **2002**, *298*, 2139.
- [89] B. Hvolbaek, T. V. W. Janssens, B. S. Clausen, H. Falsig, C. H. Christensen, J. K. Nørskov, *Nano Today* **2007**, *2*, 14.
- [90] A. S. K. Hashmi, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 3180.
- [91] T. A. Taton, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *Science* **2000**, *289*, 1757.
- [92] X. Yang, S. E. Skrabalak, Z.-Y. Li, Y. Xia, L. V. Wang, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 3798.
-

-
- [93] J. Turkevich, P. C. Stevenson, J. Hilliery, *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, 11, 55.
- [94] G. Schmid, A. Lehnert, *Angew. Chem.* **1989**, 101, 773.
- [95] C. C. Chen, P.-L. Kuo, *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, 293, 101.
- [96] G. Schmid, A. Lehnert, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 780.
- [97] D. Seo, J. C. Park, H. Song, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14863.
- [98] X. Huang, S. Neretina, M. A. El-Sayed, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 4880.
- [99] B. Nikoobakht, M. A. El-Sayed, *Chem. Mater.* **2003**, 15, 1957.
- [100] N. R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy, *Adv. Mater.* **2001**, 13, 1389.
- [101] M. B. Mohamed, K. Z. Ismail, S. Link, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 9370.
- [102] D. Seo, C. I. Yoo, I. S. Chung, S. M. Park, S. Ryu, H. Song, *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 2469.
- [103] X. Sun, S. Dong, E. Wang, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 6520.
- [104] B. Liu, J. Xie, J. Y. Lee, Y. P. Ting, J. P. Chen, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 15256.
- [105] M. Faraday, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1857**, 147, 145.
- [106] J. Zhang, J. Du, B. Han, Z. Liu, T. Jiang, Z. Zhang, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1134.
- [107] J. J. Storhoff, R. Elghanian, R. C. Mucic, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 1959.
- [108] G. Frens, *Nature* **1973**, 241, 20.
- [109] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. Whyman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 801.
- [110] I. Hussain, S. Graham, Z. Wang, B. Tan, D. C. Sherrington, S. P. Rannard, A. I. Cooper, M. Brust, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 16398.
- [111] R. Jin, S. Egusa, N. F. Scherer, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9900.
- [112] C. Li, K. L. Shuford, Q.-H. Park, W. Cai, Y. Li, E. J. Lee, S. O. Cho, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 3328.
- [113] Y. Xiong, I. Washio, J. Chen, H. Cai, Z.-Y. Li, Y. Xia, *Langmuir* **2006**, 22, 8563.
- [114] C. Besson, E. E. Finney, R. G. Finke, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 8179.
- [115] C. J. Orendorff, C. J. Murphy, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 3990.
- [116] L. Gou, C. J. Murphy, *Chem. Mater.* **2005**, 17, 3668.
- [117] D. Seo, C. I. Yoo, J. C. Park, S. M. Park, S. Ryu, H. Song, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 775.
-

-
- [118] J. H. Song, F. Kim, D. Kim, P. Yang, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 910.
 - [119] B. L. V. Prasad, S. I. Stoeva, C. M. Sorensen, K. J. Klabunde, *Langmuir* **2002**, *18*, 7515.
 - [120] B. L. V. Prasad, S. I. Stoeva, C. M. Sorensen, K. J. Klabunde, *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 935.
 - [121] G. Schmid, R. Pfeil, R. Boese, F. Bandermann, S. Meyer, G. H. M. Calis, J. W. A. van der Felden, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3634.
 - [122] G. Schmid, V. Maihack, F. Lantermann, S. Peschel, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, 589.
 - [123] S.-H. Yu, H. Cölfen, Y. Mastai, *J. Nanosci. Nanotech.* **2004**, *4*, 291.
 - [124] S. Barcikowski, A. Hahn, A. V. Kabashin, B. N. Chichkov, *Appl. Phys. A* **2007**, *87*, 47.
 - [125] C. Loo, A. Lowery, N. Halas, J. West, R. Drezek, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 709.
 - [126] B. D. Chithradi, A. A. Ghazani, W. C. W. Chan, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 662.
 - [127] P. H. Yang, X. S. Sun, J. F. Chiu, H. Z. Sun, Q. Y. He, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 494.
 - [128] B. D. Chithrani, W. C. W. Chan, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 1542.
 - [129] D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3352.
 - [130] K. K. Sandhu, C. M. McIntosh, J. M. Simard, S. W. Smith, V. M. Rotello, *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 3.
 - [131] M. Thomas, A. M. Klibanov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 9138.
 - [132] J. D. Gibson, B. P. Khanal, E. R. Zubarev, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11653.
 - [133] M. C. Bowman, T. E. Ballard, C. J. Ackerson, D. L. Feldheim, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6896.
 - [134] T. Kubo, Z. Zhelev, H. Ohba, R. Bakalova, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *365*, 54.
 - [135] S. K. Singh, P. Nielsen, A. A. Koshkin, J. Wengel, *Chem. Commun.* **1998**, 455.
 - [136] C. D. Medley, J. E. Smith, Z. Tang, Y. Wu, S. Bamrungsap, W. H. Tan, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1067.
 - [137] S. H. Radwan, H. M. Azzazy, *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2009**, *9*, 511.
 - [138] Y. Pan, S. Neuss, A. Leifert, M. Fischler, F. Wen, U. Simon, G. Schmid, W. Brandau, W. Jahnen-Dechent, *Small* **2007**, *3*, 1941.
-

- [139] Zetasizer Nano Series, User Manual, Malvern Instruments, **2004**.
- [140] P. W. Atkins, *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.
- [141] B. Carr, P. Hole, A. Malloy, P. Nelson, J. Smith, *Applications of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) in Nanoparticle Research - a Mini-Review*, NanoSight Ltd., Amesbury, **2009**.
- [142] *NanoSight LM10 & NTA 2.0 Analytical Software-Operating Manual*, NanoSight Ltd., Amesbury, **2009**.
- [143] R. F. Domingos, M. A. Baalousha, Y. Ju-Nam, M. M. Reid, N. Tufenkji, J. R. Lead, G. G. Leppard, K. J. Wilkinson, *Environmental Science & Technology* **2009**, *43*, 7277.
- [144] <http://www.cpsinstruments.eu/>, **2009**.
- [145] *Technical Note Theory of Operation*, CPS Instruments Europe, **2009**.
- [146] P. J. Goodhew, F. J. Humphreys, *Elektronenmikroskopie: Grundlagen und Anwendungen*, Mac Graw-Hill, London, **1991**.
- [147] T. J. Schmidt, M. Noeske, H. A. Gasteiger, *Langmuir* **1997**, *13*, 2591.
- [148] G. Schmid, A. Lehnert, J. O. Malm, J. O. Bovin, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 852.
- [149] D. B. Williams, C. B. Carter, *Transmission Electron Microscopy*, Plenum Press, New York, **1996**.
- [150] M. Epple, *Biomaterialien und Biomineralisation*, Teubner, Stuttgart, **2003**.
- [151] G. L. Hornyak, S. Peschel, T. Sawitowski, G. Schmid, *Micron* **1998**, *29*, 183.
- [152] J. O. Malm, J. O. Bovin, A. Petford-Long, D. J. Smith, G. Schmid, N. Klein, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 580.
- [153] M. Otto, *Analytische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [154] E. Krupp, Dissertation, Universität GH Essen, **1999**.
- [155] J. Kösters, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, **2006**.
- [156] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**.
- [157] W. Massa, *Kristallstrukturbestimmung*, Teubner, Wiesbaden, **2002**.
- [158] L. Spieß, R. Schwarzer, H. Behnken, G. Teichert, *Moderne Röntgenbeugung*, Teubner, Wiesbaden, **2005**.
- [159] <http://www.martinchrist.de/>, **2010**.
- [160] R. Jin, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6852.

- [161] H. Wu, H. Zhu, J. Zhuang, S. Yang, C. Liu, Y. C. Cao, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3790.
- [162] C. Osemann, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, **2002**.
- [163] T. K. Sau, A. L. Rogach, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 1.
- [164] D. K. Smith, B. A. Korgel, *Langmuir* **2008**, *24*, 644.
- [165] S. Kittler, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, **2009**.
- [166] Y. Gao, P. Jiang, L. Song, J. X. Wang, L. F. Liu, D. F. Liu, X. J. Xiang, Z. X. Zhang, X. W. Zhao, X. Y. Dou, S. D. Luo, W. Y. Zhou, S. S. Xie, *J. Cryst. Growth* **2006**, *289*, 376.
- [167] T. Reuter, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, **2004**.
- [168] P. F. Thompson, *Trans. Electr. Soc.* **1947**, *91*, 29.
- [169] S. Zhang, M. J. Nicol, *J. Appl. Electrochem.* **2005**, *35*, 339.
- [170] A. D. Styrcas, *Zh. Prikl. Khim.* **1973**, *46*, 1852.
- [171] J. Q. Liu, M. J. Nicol, *Can. Metall. Q.* **2002**, *41*, 409.
- [172] L. F. Kozin, V. A. Prokopenko, A. K. Bogdanova, *Prot. Met.* **2005**, *41*, 22.
- [173] A. Larsen, M. Stoltenberg, G. Danscher, *Histochem. Cell. Biol.* **2007**, *128*, 1.
- [174] D. Mahl, Diplomarbeit, Universität Duisburg-Essen, **2008**.
- [175] K. Yonezu, C. Wiraseranee, Y. Katsuyama, S. Utsunomiya, Y. Okaue, A. Imai, K. Watanabe, T. Yokoyama, *Kyushu Dai. Chuo Bunseki Senta Hokoku* **2008** *26*, 34.
- [176] V. V. Tatarchuk, A. I. Bulavchenko, I. A. Druzhinina, *Zh. Neorg. Khim.* **2008**, *53*, 1051.
- [177] M. Dequaire, C. Degrand, B. Limoges, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5521.
- [178] L. Authier, C. Grossiord, P. Brossier, B. Limoges, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4450.
- [179] A. Larsen, K. Kolind, D. S. Pedersen, P. Doering, M. O. Pedersen, G. Danscher, M. Penkowa, M. Stoltenberg, *Histochem. Cell. Biol.* **2008**, *130*, 681.
- [180] F. Reith, M. F. Lengke, D. Falconer, D. Craw, G. Southam, *ISME J.* **2007**, *1*, 567.
- [181] Z. Jingrong, L. Jianjun, Y. Fan, W. Jingwei, Z. Fahua, *Chin. J. Geochem.* **1996**, *15*, 296.
- [182] J. Falbe, M. Regitz, *CD Römpp Chemie Lexikon*, Thieme, Stuttgart, **1995**.
- [183] K.-H. Kim, J.-U. Kim, S.-H. Cha, J.-C. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7482.
- [184] H. J. Yen, S. H. Hsu, C. L. Tsai, *Small* **2009**, *5*, 1553.

- [185] R. C. Murdock, L. Braydich-Stolle, A. M. Schrand, J. J. Schlager, S. M. Hussain, *Toxicol. Sci.* **2008**, *101*, 239.
- [186] S. Bastian, W. Busch, D. Kuhnel, A. Springer, T. Meissner, R. Holke, S. Scholz, M. Iwe, W. Pompe, M. Gelinsky, A. Potthoff, V. Richter, C. Ikonomidou, K. Schirmer, *Environ. Health Perspect.* **2009**, *117*, 530.
- [187] D. Kühnel, W. Busch, T. Meißner, A. Springer, A. Potthoff, V. Richter, M. Gelinsky, S. Scholz, S. Schirmer, *Aqua. Toxicol.* **2009**, *93*, 91.
- [188] S. Deguchi, T. Yamazaki, S. Mukai, R. Usami, K. Horikoshi, *Chem. Res. Toxicol.* **2007**, *20*, 854.
- [189] S. Kittler, C. Greulich, J. S. Gebauer, J. Diendorf, L. Treuel, L. Ruiz, J. M. Gonzalez-Calbet, M. Vallet-Regi, R. Zellner, M. Köller, M. Epple, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 512.
- [190] C. Greulich, S. Kittler, M. Epple, G. Muhr, M. Koller, *Langenbecks Arch. Surg.* **2009**, *394*, 495.
- [191] I. Montes-Burgos, D. Walczyk, P. Hole, J. Smith, I. Lynch, K. Dawson, *J. Nanopart. Res.* **2010**, *12*, 47.
- [192] L. K. Limbach, Y. C. Li, R. N. Grass, T. J. Brunner, M. A. Hintermann, M. Muller, D. Gunther, W. J. Stark, *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 9370.
- [193] S.-H. Wang, C.-W. Lee, A. Chiou, P.-K. Wei, *Journal of Nanobiotechnology* **2010**, *8*, 33.
- [194] M. Geppert, M. C. Hohnholt, K. Thiel, S. Nürnberger, I. Grunwald, K. Rezwani, R. Dringen, *Nanotechnol.* **2011**, *22*, 145101.
- [195] V. V. Sokolova, I. Radtke, R. Rolf Heumann, M. Epple, *Biomaterials* **2006**, *27*, 3147.
- [196] S. K. Balasubramanian, L. Yang, L.-Y. L. Yung, C.-N. Ong, W.-Y. Ong, L. E. Yu, *Biomaterials* **2010**, *31*, 9023.
- [197] L. Sachs, J. Hedderich, *Angewandte Statistik*, Springer, Berlin, **2009**.
- [198] X. M. He, D. C. Carter, *Nature* **1992**, *358*, 209.
- [199] M. L. Ferrer, R. Duchowicz, B. Carrasco, J. G. de la Torre, A. U. Acuna, *Biophys. J.* **2001**, *80*, 2422.
- [200] C. Röcker, M. Pötzl, F. Zhang, W. J. Parak, G. U. Nienhaus, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 577.
- [201] D. C. Carter, J. X. Ho, *Adv. Protein Chem.* **1994**, *45*, 153.

-
- [202] A. Verma, O. Uzun, Y. Hu, H.-S. Han, N. Watson, S. Chen, D. J. Irvine, F. Stellacci, *Nat. Mater.* **2008**, 7, 588.
- [203] T. S. Hauck, A. A. Ghazani, W. C. Chan, *Small* **2008**, 4, 153.
- [204] K. Rezwan, A. R. Studart, J. Vörös, L. J. Gauckler, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 14469.
- [205] C. F. Wertz, M. M. Santore, *Langmuir* **1999**, 15, 8884.
- [206] P. Roach, D. Farrar, C. C. Perry, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 8168.
- [207] M. Malmsten, *Colloids Surf., B* **1995**, 3, 297.
- [208] T. J. Su, J. R. Lu, R. K. Thomas, Z. F. Cui, J. Penfold, *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 8100.
- [209] C. Kößlinger, E. Uttenthaler, S. Drost, F. Aberl, H. Wolf, G. Brink, A. Stanglmaier, E. Sackmann, *Sens. Actuators, B* **1995**, 24, 107.
- [210] B. Müller, M. Zacharias, K. Rezwan, *Advanced Biomaterials*, Wiley-VCH, Weinheim, **2010**.
- [211] K. Rezwan, L. P. Meier, M. Rezwan, J. Vörös, M. Textor, L. J. Gauckler, *Langmuir* **2004**, 20, 10055.
- [212] K. Rezwan, L. P. Meier, L. J. Gauckler, *Biomaterials* **2005**, 26, 4351.
- [213] S. H. Brewer, W. R. Glomm, M. C. Johnson, M. K. Knag, S. Franzen, *Langmuir* **2005**, 21, 9303.
- [214] M. F. Pittenger, A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig, D. R. Marshak, *Science* **1999**, 284, 143.
- [215] D. Baksh, L. Song, R. S. Tuan, *J. Cell. Mol. Med.* **2004**, 8, 301.
- [216] X. M. Wang, P. I. Terasaki, G. W. Rankin, D. Chia, H. P. Zhong, S. Hardy, *Hum. Immunol.* **1993**, 37, 264.
- [217] R. Lichtenfels, W. E. Biddison, H. Schulz, A. B. Vogt, R. Martin, *J. Immunol. Methods* **1994**, 172, 227.
- [218] S. Ylä-Herttuala, T. T. Rissanen, I. Vajanto, J. Hartikainen, *J. Am. Coll. Cardiol.* **2007**, 49, 1015.
- [219] M. A. Dobrovolskaia, D. R. Germolec, J. L. Weaver, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 411.
- [220] M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller, I. Slaper-Cortenbach, F. Marini, D. Krause, R. Deans, A. Keating, D. J. Prockop, E. Horwitz, *Cytotherapy* **2006**, 8, 315.
-

-
- [221] J. H. Fan, W. I. Hung, W. T. Li, J. M. Yeh, *IFMBE Proc.* **2009**, 23, 870.
 - [222] Y. Pan, A. Leifert, D. Ruau, S. Neuss, J. Bornemann, G. Schmid, W. Brandau, U. Simon, W. Jahnen-Dechent, *Small* **2009**, 5, 2067.
 - [223] N. G. Bastus, E. Sanchez-Tillo, S. Pujals, C. Farrera, C. Lopez, E. Giralt, A. Celada, J. Lloberas, V. Puentes, *ACS Nano* **2009**, 3, 1335.
 - [224] R. Shukla, V. Bansal, M. Chaudhary, A. Basu, R. R. Bhonde, M. Sastry, *Langmuir* **2005**, 21, 10644.
 - [225] G. Schmid, *Nanoparticles. From Theory to Application*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
 - [226] D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 3280.
 - [227] V. Sokolova, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1382.
 - [228] Y. W. Jun, J. W. Seo, J. Cheon, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 179.
 - [229] D. W. Grainger, D. G. Castner, *Adv. Mater.* **2008**, 20, 867.
 - [230] S. J. Choi, J. M. Oha, J. H. Choy, *J. Mater. Chem.* **2008**, 18, 615.
 - [231] S. M. Hussain, L. K. Braydich-Stolle, A. M. Schrand, R. C. Murdock, K. O. Yu, D. M. Mattie, J. J. Schlager, M. Terrones, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 1549.
 - [232] Y. Dieckmann, H. Colfen, H. Hofmann, A. Petri-Fink, *Anal. Chem.* **2009**, 81, 3889.
 - [233] A. Bootz, V. Vogel, D. Schubert, J. Kreuter, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, 57, 369.
 - [234] H. Lange, *Part. Part. Syst. Charact.* **1995**, 12, 148.
 - [235] K. L. Planken, B. W. M. Kuipers, A. P. Philipse, *Anal. Chem.* **2008**, 80, 8871.
 - [236] R. Landsiedel, L. Ma-Hock, A. Kroll, D. Hahn, J. Schnekenburger, K. Wiench, W. Wohlleben, *Adv. Mater.* **2010**, 22, 2601.
 - [237] S. A. Cumberland, J. R. Lead, *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 9099.
 - [238] G. W. Mulholland, M. K. Donnelly, C. R. Hagwood, S. R. Kukuck, V. A. Hackley, D. Y. H. Pui, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* **2006**, 111, 257.
 - [239] D. Gebauer, A. Völkel, H. Colfen, *Science* **2008**, 322, 1819.
 - [240] R. Bienert, F. Emmerling, A. F. Thunemann, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, 395, 1651.
 - [241] H. Endo, D. Schwahn, H. Colfen, *J. Chem. Phys.* **2004**, 120, 9410.
 - [242] A. Heiss, W. Jahnen-Dechent, H. Endo, D. Schwahn, *Biointerphases* **2007**, 2, 16.
-

- [243] F. Scheffold, A. Shalkevich, R. Vavrin, J. Crassous, P. Schurtenberger, *ACS Symp. Ser. 881* **2004**, 3.
- [244] M. Shibayama, T. Karino, S. Okabe, *Polymer* **2006**, 47, 6446.
- [245] D. Mahl, C. Greulich, W. Meyer-Zaika, M. Köller, M. Epple, *J. Mater. Chem.* **2010**, 20, 6176.
- [246] M. Tsoli, H. Kuhn, W. Brandau, H. Esche, G. Schmid, *Small* **2005**, 1, 841.
- [247] M. Semmler-Behnke, W. G. Kreyling, J. Lipka, S. Fertsch, A. Wenk, S. Takenaka, G. Schmid, W. Brandau, *Small* **2008**, 4, 2108.
- [248] M. Motskin, D. M. Wright, K. Muller, N. Kyle, T. G. Gard, A. E. Porter, J. N. Skepper, *Biomaterials* **2009**, 30, 3307.

8. Anhang

8.1. Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
BSA	Bovines Serum Albumin (engl. <i>bovine serum albumin</i>)
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
DCC	N,N'-dicyclohexylcarbodiimid
DCH	N,N'-dicyclohexylharnstoff
DLS	Dynamische Lichtstreuung (engl. <i>dynamic light scattering</i>)
DLVO	Theorie von Derjagin, Landau, Verwey und Overbeek
DMAP	Dimethylaminopyridin
DPTS	4-(N,N'-dimethylamino)pyridinium-4-toluolsulfonat
E ⁰	Standardelektrodenpotential
EA	Elementaranalyse
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (engl. <i>energy dispersive X-ray spectroscopy</i>)
EMK	elektromotorische Kraft
FCS	Fötales Kälberserum (engl. <i>fetal calf serum</i>)
HOMO	höchstes besetztes Molekülorbital (engl. <i>highest occupied molecular orbital</i>)
HR-TEM	Hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (engl. <i>high resolution transmission electron microscopy</i>)
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma (engl. <i>inductively coupled plasma</i>)
IR	Infrarot
LD-PE	<i>Low Density</i> Polyethylen

LUMO	niedrigstes unbesetztes Molekülorbital (engl. <i>lowest unoccupied molecular orbital</i>)
MS	Massenspektrometrie
MWCO	(engl. <i>molecular weight cut off</i>)
NMR	Kernresonanzspektroskopie (engl. <i>nuclear magnetic resonance</i> , NMR)
NTA	(engl. <i>nanoparticle tracking analysis</i>)
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung (engl. <i>phosphate buffered saline solution</i>)
PDI	Polydispersitätsindex
<i>p</i> -TS	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
PAA	Polyacrylsäure
PAH	Polyallylaminhydrochlorid
PEI	Polyethylenimin
PSS	Polystyrolsulfonat
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVP	Polyvinylpyrrolidon
REM	Rasterelektronenmikroskopie (engl. <i>scanning electron microscopy</i> , SEM)
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SERS	oberflächenverstärkte Raman-Streuung (engl. <i>surface enhanced raman scattering</i>)
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
TD ₂₀ -a	[5-(1,2-Dithiolan-3-yl)-1-oxopentyl]polyethylenglycolsorbitanmonolaurat
TD ₂₀ -L	(6,8-Dimercapto-1-oxooctyl)polyethylenglycolsorbitanmonolaurat

TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TG	Thermogravimetrie
THF	Tetrahydrofuran
TPPTS	Tris(natrium- <i>m</i> -sulfonatophenyl)phosphan
Tween 20	Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonolaurat
U	Umdrehung
UV	Ultraviolett
VE	voll entsalzt
Vis	sichtbar (engl. <i>visible</i> , Vis)
XRD	Röntgenpulverdiffraktometrie (engl. <i>X-ray diffraction</i>)

8.2. Geräte

Atomabsorptionsspektrometer	Thermo Electron Corporation, M-Serie
Analysenwaage	Sartorius, LA 310 S
Dialysemembran	Serva, regenerierte Cellulose MWCO 12000-14000 Da Serva, Celluloseester MWCO 100000 Da
Elementaranalysator	Eurovector, Euro EA 3000
Energiedispersives Röntgenspektrometer	FEI, Quanta 400 FEG
Gefriertrocknungsanlage	Christ, Alpha 2-4 LSC
Heizrührer	IKA, RET basic
ICP-Massenspektrometer	Agilent, ICP-MS 7500 Ce Perkin Elmer, ICP-MS ELAN DRC II
IR-Spektrometer	Bruker, Vertex 70
Nanofilter	Millipore, Amicon-15, UFC900308 MWCO 3000 Da
Nanosizer	Malvern, Zetasizer Nano ZS ZEN 3600
NMR-Spektrometer	Bruker, DPX 300
<i>Nanoparticle Tracking Analysis</i>	NanoSight, LM 14-HS
pH-Meter	HANNA, HI 991001
Rasterelektronenmikroskop	FEI, Quanta 400 FEG

Reinstwasser-Aufbereitungs-System	Elga, Purelab Ultra Bioscience
Röntgendiffraktometer	Bruker D8 Advance
Rotationsverdampfer	Büchi, Rotavapoor R-114
Rotor-Typ (für die Ultrazentrifuge)	Beckman, Type 70 Ti, Ser.-No.: 07 E 1565
Scheibenzentrifuge	CPS Instruments Inc., Disc Centrifuge Model DC 24000
Thermowaage	Netzsch, STA 409 PC
Transmissionselektronenmikroskop	Philips, CM 200 FEG (TEM) (Universität Duisburg-Essen, Campus Essen) Tecnai, F20 (HR-TEM) (Universität Duisburg-Essen, Campus Duisburg) JEOL-JEM-3000 F (HR-TEM) (Universität Madrid)
Ultraschallbad	Bandelin, Sonorex RK 510
Ultraschalldisperser	Hielscher, Ultraschallprozessor UP 50 H
Ultrazentrifuge	Thermo Electron Corporation, Sorvall WX Ultra Series, Ser.-No.: 40621529
UV-Spektrometer	Varian, UV Cary 300 Bio

Zentrifuge

Hermle, Z 300

Heraeus, Labofuge 300

8.3. Gefahrstoffe und Entsorgung

Chemikalie	Hersteller	Gefahrstoff-Symbol	R-Sätze	S-Sätze	Entsorgung
Aceton	Fluka	F, Xi	11-36-66-67	9-16-26	E3
Agarose	Aldrich	-	-	-	E5
AgNO ₃	Roth	C, N	34	50/53	E4
BSA	Serva	-	-	-	E5
CH ₂ Cl ₂	Fisher	Xn	40	23-24/25-36/37	E3
CHCl ₃	Fisher	Xn	22-38-40-48/20/22	2-36/37	E3
CDCl ₃	Aldrich	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37	E3
DCC	Aldrich	T	24-22-41-43	1/2-24-26-37/39-45	E4
DMAP	Aldrich	T	24/25-36/38	22-36/37-45	E4
DPTS	-	-	-	-	E4
Ethanol	Fisher	F	11	2-7-16	E1
Ethylenglykol	Fluka	Xn	22	2-46	E3
HCl	Aldrich	C	34-37	1/2-26-45	E2
HNO ₃	Fisher	C, O	8-35	1/2-23-26-36-45	E2
Gerbsäure	Acros	-	-	24/25	E1
Glukose	Fluka	-	-	-	E1
Liponsäure	Aldrich	Xn	22	-	E5
NaBH ₄	Aldrich	T, F	15-24/25-35	7/8-26-36-43-45	E4
NaCl	Aldrich	-	-	-	E1
Na ₂ SO ₄	Aldrich	-	-	-	E5
p-TS	Aldrich	Xi	36/37/38	2-26-37	E5
PVP 40 kDa	Fluka	-	-	-	E1
TAE-Puffer	Genaxxon	-	-	-	E1

Anhang

TD ₂₀ -a	-	-	-	-	E4
TD ₂₀ -L	-	-	-	-	E4
Tetrachloro- goldsäure	-	C	34-43	26-36/37/ 39-45	E4
THF	Fisher	F, Xi	11-19- 36/37	2-16-29- 33	E3
Trinatrium- citrat Dihydrat	Fluka	Xi	36	26	E1
TPPTS	Strem	Xi	-	36/37/38	E4
Tween 20	Aldrich	-	-	-	E1

E1 Verdünnt in den Ausguss geben

E2 Neutralisiert in den Ausguss geben

E3 Sammelbehälter für organische Lösemittel zuführen

E4 Der Sondermüllbeseitigung zuführen

E5 Sammelbehälter für Feststoffe zuführen

8.4. Publikationsliste

Reguläre Publikationen in referierten wissenschaftlichen Fachzeitschriften

D. Mahl, C. Greulich, W. Meyer-Zaika, M. Köller, M. Eppe, "Gold nanoparticles: dispersability in biological media and cell-biological effect", *J. Mater. Chem.*, 2010, **20**, 6176.

D. Mahl, J. Diendorf, W. Meyer-Zaika, M. Eppe, "Possibilities and limitations of different analytical methods for the size determination of a bimodal dispersion of metallic nanoparticles", *Colloids and Surf. A*, 2011, **377**, 386.

A. Rostek, D. Mahl, M. Eppe, "Chemical composition of surface-functionalized gold nanoparticles", *J. Nanopart. Res.*, (**accepted**).

Wissenschaftliche Vorträge (P=Poster, V=Vortrag)

German-Ukrainian-Symposium on Nanoscience and Nanotechnology 2008, 22.-25.09.2008, Essen, D. Mahl, M. Eppe, "On the equilibrium concentration of gold ions with gold nanoparticles" (**P**)

44th Meeting of the German Colloid Society, 28.-30.09.2009, Hamburg, M. Eppe, J. Diendorf, S. Kittler, D. Mahl, "On the slow dissolution of metallic nanoparticles (gold, silver) in aqueous media" (**P**)

MRS Fall Meeting, 30.11.-04.12.2009, Boston, USA, D. Mahl, M. Eppe, "On the slow dissolution of gold nanoparticles in aqueous media" (**V**)

Edelmetallforum 2010, 16.-17.06.2010, Essen, D. Mahl, C. Greulich, W. Meyer-Zaika, M. Köller, M. Eppe, "Gold-Nanopartikel: Dispergierbarkeit in biologischen Medien, zellbiologische Effekte und Auflösungsuntersuchungen in Reinstwasser" (**V**)

MRS Fall Meeting, 29.11.-03.12.2010, Boston, USA, D. Mahl, C. Greulich, W. Meyer-Zaika, M. Köller, M. Eppe, "Gold nanoparticles: dispersability in biological media, cell-biological effects and dissolution experiments in aqueous media" (**V**)

8.5. Lebenslauf

Persönliche Daten

Geburtsdatum: 5. Mai 1975
Geburtsort: Bottrop
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Berufserfahrung

06/2011 – heute Projektleitung Forschung & Entwicklung, HOPPECKE Batterien
04/2008 – 07/2011 Promotion an der Universität Duisburg-Essen „**Synthese, Löslichkeit und Stabilität von Gold-Nanopartikeln in biologischen Medien**“
11/2008 – 05/2011 Leitung des Anorganisch-Chemischen Praktikums für Fortgeschrittene (Festkörperchemie)
04/2008 – 09/2008 Assistent der Tagungsleitung des German-Ukrainian Symposium on Nanoscience and Nanotechnology 2008 in Essen

Auslandsaufenthalte

10/2010 Forschungsaufenthalt National Research Center Kairo
Arbeitskreis Prof. Dr. A. Mostafa
(DAAD-Stipendium)
10/2008 Forschungsaufenthalt Universität Madrid
Arbeitskreis Prof. Dr. M. Vallet-Regi
(DAAD-Stipendium)

Studium

09/2007 – 03/2008 Anfertigung der Diplomarbeit im Institut für Anorganische Chemie bei Prof. Dr. M. Eppe
Abschluss als Diplom-Chemiker
10/1998 Vordiplom
10/1996 Aufnahme des Chemiestudiums an der Universität Essen

Weiterer Bildungsweg

1985 – 1995 Besuch des Heinrich-Heine-Gymnasiums in Bottrop,
Erwerb der allgemeinen Hochschulreife
1981 – 1985 Besuch der Fürstenberg-Grundschule in Bottrop

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit mit dem Titel

„Synthese, Löslichkeit und Stabilität von Gold-Nanopartikeln in biologischen Medien“

selbst verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen verwendet zu haben.

Zudem erkläre ich, dass ich die Arbeit in dieser oder einer ähnlichen Form bei keiner anderen Fakultät eingereicht habe.

Essen, im März 2011

Dirk Mahl

Danksagung

Ich danke

Prof. Dr. Matthias Epple herzlich für die Überlassung des Themas, seine Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit und für die Ermöglichung der Forschungsaufenthalte in Kairo und Madrid sowie der Teilnahme an den Konferenzen in Boston.

ebenso Prof. Dr. Torsten C. Schmidt für die Übernahme des Korreferats.

den Kooperationspartnern Prof. Dr. Manfred Köller und Dipl.-Biol. Christina Greulich vom Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum für die angenehme Zusammenarbeit und die zellbiologischen Ergebnisse. Darüber hinaus danke ich Prof. Dr. Reinhard Zellner und Dr. Lennart Treuel von der Universität Duisburg-Essen für die Bestimmung der Viskosität der biologischen Medien.

Herrn Dr. Götz Hoffmann für die Unterstützung im Bereich der NTA.

Prof. Dr. Maria Vallet-Regi, Prof. Dr. José Maria González-Calbet und Dr. Luiza Ruiz-Gonzales von der Universität Madrid für die Anfertigung der HRTEM-Aufnahmen.

Dr. Wolfgang Meyer-Zaika, Prof. Dr. Michael Farle, Dr. Marina Spasova, Dr. Zi-An Li und Dipl.-Ing. Horst Zähres für die Unterstützung im Bereich der TEM.

Dipl.-Ing. Smail Boukercha und Ursula Giebel für die Unterstützung im Bereich der REM.

Dipl.-Ing. Jürgen Gündel-Graber für die Unterstützung im Bereich der Röntgenpulverdiffraktometrie.

Dr. Kathirvel Ganesan für die Unterstützung bei der Synthese des Tween-Liganden.

Dr. Henning Urch, Dr. Thorsten Peitsch, Dipl.-Chem. Jörg Diendorf, Dipl.-Ing. (FH) Alexander Peetsch und Carola Fischer für die Lösung der Probleme, die bei der Hardware- und Softwarenutzung aufgetreten sind.

Dipl.-Ing. (FH) Alexander Peetsch, Dipl.-Chem. Jan Klesing und M. Sc. Chemie Johannes Rüsing für die kritische Begutachtung dieser Arbeit.

Kerstin Brauner und Veronika Hiltenkamp für die analytische Untersuchung der Gold-Proben unter Zuhilfenahme der AAS.

Prof. Dr. Alfred V. Hirner, Dr. Margareta Sulkowski und Maria Madani von der Universität Duisburg-Essen und Dr. Achim Rübel und Dipl.-LMChem. Beate Dierolf-Emig vom IWW Mülheim für die analytische Untersuchung der Gold-Proben mit der ICP-MS.

Sabine Bollmann für die gute Zusammenarbeit während meiner Tätigkeit als Leiter des Anorganisch-Chemischen Praktikums für Fortgeschrittene (Festkörperchemie).

Barbara Nota und Sabine Kiefer für die Hilfe bei der Bewältigung der Formalitäten.

Dipl.-Chem. Jörg Diendorf, M. Sc. Chemie Johannes Rüsing, B. Sc. Chemie Alexander Rostek, M. Sc. Chemie Dipl.-Chem. (FH) Katharina Genesis, Robert Lindner und Kathrin Lempner für ihre praktische Unterstützung.

den ehemaligen Kollegen Dr. Markus Neumann, Dipl.-Chem. Matthias Matthes, Dr. Henning Urch, Dr. Stefanie Kittler und Dr. Janine Siekman sowie Dipl.-Ing. (FH) Alexander Peetsch, Dipl.-Chem. Jan Klesing, M. Sc. Chemie Johannes Rüsing, M. Sc. Physik Maria Surmeneva, M. Sc. Biologie Olga Rotan und Dipl.-Chem. Daniel Hagmeyer für die vielen schönen Momente im Labor.

meiner Freundin Silke für das große Verständnis.

meinen Eltern, insbesondere meiner Mutter, für die bedingungslose Unterstützung in der gesamten Studienzeit.